



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E FOTOPROTETORA
DE ESPÉCIES DA FAMÍLIA ANNONACEAE**

RODRIGO SILVA DE ANDRADE

**João Pessoa - PB
2017**

RODRIGO SILVA DE ANDRADE

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E FOTOPROTETORA
DE ESPÉCIES DA FAMÍLIA ANNONACEAE**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenação do Curso de
Graduação em Farmácia do Centro de
Ciências da Saúde da Universidade
Federal da Paraíba, como parte dos
requisitos para obtenção do grau de
Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Josean Fachine Tavares

Co-orientador: Me. Yuri Manguiera Do Nascimento

**João Pessoa - PB
2017**

A553a Andrade, Rodrigo Silva de.

Avaliação da atividade antioxidante e fotoprotetora de espécies da família
annonaceae / Rodrigo Silva de Andrade. - - João Pessoa, 2017.

72f. : il. -

Orientador: Josean Fachine Tavares.

Coorientador: Yuri Manguiera do Nascimento.

Monografia (Graduação) – UFPB/CCS.

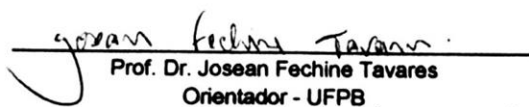
1. Annonaceae. 2. Filtro solar. 3. Fotoproteção. 4. Farmacologia. 5. Ciências
Farmacêuticas.

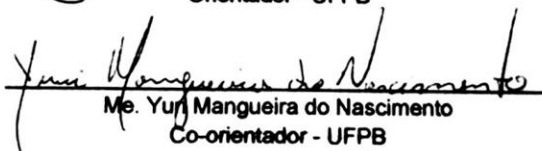
RODRIGO SILVA DE ANDRADE

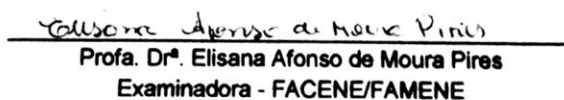
**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E FOTOPROTETORA
DE ESPÉCIES DA FAMÍLIA ANNONACEAE**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenação do Curso de
Graduação em Farmácia do Centro de
Ciências da Saúde da Universidade
Federal da Paraíba, como parte dos
requisitos para obtenção do grau de
Bacharel em Farmácia.

Aprovado em 27 de Novembro de 2017.


Prof. Dr. Josean Fechine Tavares
Orientador - UFPB


Me. Yuri Manguiera do Nascimento
Co-orientador - UFPB


Profa. Drª. Elisana Afonso de Moura Pires
Examinadora - FACENE/FAMENE


Me. Kaio Aragão Sales
Examinador - UFPB

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo, agradeço a Deus, por tudo que ele me deu e sempre esteve presente nos momentos mais difíceis.

Aos meus pais, Maria das Graças e José Carlos, por tudo que fizeram por mim, pela educação que me deram, por abdicarem de muita coisa para me dar uma vida que eles não tiveram, e por me incentivar a estudar, pois sem isso eu jamais teria chegado até aqui.

A meus irmãos, Isaías e Luciana, pelo apoio, carinho, incentivo e amizade que sempre tiveram comigo.

A minha Madrinha, Virgínia (Tia Fia), pelo seu amor incondicional e por sempre acreditar em mim, além de ser uma segunda mãe para mim.

A minha prima Telma, por sempre me apoiar e me incentivar nos estudos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Josean Fachine Tavares, por ter me orientado neste trabalho, pelos ensinamentos diários e também por me ensinar a ser uma pessoa mais justa e humilde, qualidades que eu admiro muito nele.

Ao meu co-orientador e amigo, Yuri Manguiera, por ter me ensinado tudo que eu precisei fazer no desenvolvimento deste trabalho, pois sem sua ajuda jamais teria conseguido terminar. Agradecer demais pelo tempo que passou processando os dados comigo entre outras formas na qual me ajudou.

A professora Marianna Sobral, por disponibilizar o laboratório e o espectrômetro de ultravioleta.

A equipe Sobral, Fachine, Costa e Barbosa, pois me acolheram de uma forma tão gratificante que eu não tenho palavras para descrever.

Ao Dr. Vicente Carlos, pela amizade e por ter me dado uma oportunidade e aberto às portas do laboratório para mim, pois se ele não tivesse feito provavelmente eu não teria desenvolvido este trabalho nessa área e não estaria tão realizado com a área de farmacocinética.

A Diego Igor “Careção” pela amizade e cumplicidade, além de ter um jeito tão parecido com o meu, um grande amigo que fiz no laboratório.

A Juliana Gomes, que inicialmente eu achei que não foi com a minha cara kkkk, mas que com o passar do tempo, a conheci melhor e vi que ela é uma ótima pessoa. Agradeço pelos debates no whatsapp sobre como melhorar alguns tópicos

desse TCC, por me ajudar a realizar o teste de absorbância máxima e a como processar os dados e por me mostrar que um celular da Samsung pode ser bom!

Ao meu amigo-irmão, Iutemar Francisco “Garajau” por sempre estar presente nos melhores e piores momentos da minha vida, desde que entrei na universidade. Por sempre estar logado (in game), e ser o criador de vários bordões.

A meu amigo, Arthur Pontes “Lentão”, um amigo que pretendo levar por muito tempo, e além da amizade, pelo fato de ele ser de um período a frente do meu, ele sempre me ajudou com dicas e com materiais das disciplinas. Juntos, eu, ele e garajau, formamos o “trio feiii” kkkk.

A Indyra Figueiredo, por ter sido simplesmente a pessoa mais maravilhosa que eu conheci durante o curso de farmácia. Por estar sempre ao meu lado, por sempre me escutar quando precisei, por sempre me dar conselhos, por sempre me ajudar sem nem pensar, por passar o dia todo conversando comigo, e por eu ter a certeza que eu sempre poderei contar com ela pra o que eu precisar. Com certeza, jamais me esquecerei de você. Ah, e também agradecer por me ajudar a desenvolver esse trabalho e todos os outros que precisei do seu olhar minucioso para identificar erros!

Aos amigos que fiz na turma “Profa. Dra. Zelia Braz Vieira da Silva Pontes”, vocês foram uma segunda família que ganhei ao entrar na universidade. Desde sempre, quando eu ia iniciar uma nova série, novo ano escolar, ou seja, uma nova turma, eu sempre pedia muito a Deus para que tivesse uma boa turma, e vocês não foram uma turma boa, foram A MELHOR TURMA que eu já tive! Durante a caminhada até aqui, foram vários momentos difíceis e cansativos, mas com vocês ao meu lado, superá-los foi muito mais fácil.

A meu amigo Pablo Ferreira, que foi uma das pessoas que eu mais passei tempo na universidade (e nos bares) kkkkk. Uma das pessoas com que mais me identifiquei, em todos os aspectos. Sempre sorridente e pronto para tirar qualquer pessoa do sério, mas que no fundo, sempre esteve pronto para ajudar a todos e sempre me ajudou quando precisei.

A Leonardo Santos “o fênix”, esse cara que a primeira vez que teve contato com alguém da turma já chegou dizendo que só conversa com essa pessoa depois de 6 meses, o cara que mais se acha do curso de farmácia, cheio dos bordões e histórias inusitadas, obrigado fênix por ter feito esse curso mais divertido.

A meu amigo Berg Diniz, por sempre estudar comigo para as provas e estar sempre presente para zuar o fênix. Além de ser um ombro amigo para conversas.

A minha amiga Andrezza Araújo, que desde sempre a achei uma pessoa misteriosa, e que ao conhecê-la, esse mistério desapareceu (em partes). Você sempre esteve ao meu lado nos momentos mais difíceis, e sempre foi uma boa conselheira, eu tenho certeza que posso contar com você agora e por muito tempo! Como ela sempre fala “eu tenho uma amizade com Rodrigo que só a gente sabe”, pois é, só a gente sabe mesmo!

A Ana Rita, que apesar de não ser originalmente da nossa turma, chegou aos poucos e tomou conta de todos! A essa gorda, que eu passo o dia pegando nos seus braços gordos kkkkk. A essa amiga, que desde sempre esteve junto comigo, quem eu sempre pude contar, e que agora vamos continuar juntos no mestrado. Vai poder ter o prazer da minha presença por no mínimo mais 2 anos.

A Sarah Ramos, outra que também não era da nossa turma, mas graças a deus se juntou a nos. Sempre entendeu meu jeito de ser e sempre esteve comigo de um jeito ou de outro. Obrigado também por me permitir ver os comentários da sua avó no seu facebook kkkkkkk.

A Gabriela Tafacla, uma pessoa que eu não imaginei que um dia criaríamos uma amizade tão boa, pois eu a vim conhecer melhor apenas no 6º período quando ela entrou para o LABETOX, e depois disso criamos um laço de amizade incrível!

A minha amiga Thaynara, por sempre estar presente me ajudando e orientando o resto das meninas a fazer algo descente kkkkk, pois você sempre foi a pessoa que dava foco a todos.

A Valgricia, pela amizade e carinho, sempre sorridente e pronta para ajudar o próximo.

A Nayara, que apesar de ter ser bastante distraída kkkkk, sempre se mostrou uma ótima amiga!

A Namíbia pela amizade e por estar sempre a postos para me dar um conselho.

A Ingrid e Lidyane, além da amizade, por terem me ajudado com todos os documentos necessários para defender este TCC.

A duplinha dinâmica Alzimary e Bianca, onde uma é à sombra da outra. As quais foram às meninas da minha turma que eu passei mais tempo junto, apanhando muito delas kkkkk. Uma amizade sincera, que vai durar muito tempo, pois

é de brigas e reconciliações que nos vivemos, com certeza isso é uma amizade pra se guardar né? E detalhe, não iam colocar meu nome nos agradecimentos delas, vou colocá-las aqui só por educação, rsrsrs brincadeira.

A todos os professores que fizeram parte da minha vida acadêmica, em especial aos professores do Departamento de Ciências Farmacêuticas (DCF), onde, muitos se tornaram meus amigos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa concedida de iniciação científica durante 2 anos.

À Universidade Federal da Paraíba, instituição que me formou como profissional de Farmácia e responsável pelo meu crescimento humano e acadêmico.

A todos que, de maneira direta ou indireta, contribuíram para a produção desse Trabalho.

Muito Obrigado!

Rodrigo Silva de Andrade

RESUMO

ANDRADE, R.S. Avaliação da atividade antioxidante e fotoprotetora de espécies da família Annonaceae. João Pessoa, 2017. 72 p. Monografia (Trabalho de conclusão de curso em Farmácia) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba.

A família Annonaceae foi catalogada em 1789 por Jussieu, e possui aproximadamente 2.500 espécies e 108 gêneros, das quais, 386 espécies ocorrem no Brasil, a maior parte nas regiões Norte e Nordeste. Dentre elas, *Anaxagorea dolichocarpa* (“paixinho”), *Fusaea longifolia* (“envira”) e *Xylopia langsdorffiana* (“pimenteira-da-terra”), que são bem distribuídas no país, e carecem de uma avaliação de sua atividade antioxidante e fotoprotetora. No Brasil o câncer de pele é uma das neoplasias mais comum, desta forma é fundamental a realização de estudos com produtos naturais objetivando o desenvolvimento de novos fotoprotetores. Diante disso, este trabalho teve como objetivo realizar um estudo da atividade antioxidante e fotoprotetora dos extratos etanólicos brutos (EEB's) de três espécies acima citadas. Para tanto, as raízes de *A. dolichocarpa* foram coletadas no município de Cruz do Espírito Santo (PB), bem como as folhas de *X. langsdorffiana*, e o caule de *F. longifolia* na reserva Mocambo (PA). Todas foram secas e pulverizadas, e a partir do pó obtido, foi feita, individualmente, uma maceração com Etanol a 95% para obter o EEB de cada planta a ser trabalhada. Para realizar o teste da atividade antioxidante *in vitro*, foi utilizado o método de sequestro de radicais (DPPH), onde o resultado obtido é expresso em CE₅₀ e o padrão utilizado é o ácido ascórbico. O teor de compostos fenólicos totais das amostras foi determinado utilizando o método de Folin-Ciocalteu, que tem como padrão o ácido gálico, enquanto que o teor de flavonoides totais foi determinado pelo método colorimétrico com AlCl₃, sendo utilizada a quercetina como padrão. Todas as análises foram feitas em triplicata. Para determinar a atividade fotoprotetora, foi utilizada a técnica de absorbância máxima, que consiste em fazer uma varredura de espectro na faixa de comprimento de onda entre 220 a 400 nm, para que a partir desses valores, seja possível calcular o fator de proteção solar (FPS) *in vitro*, utilizando o método desenvolvido por Mansur. Após análise dos dados, foi observado que o EEB de *F. longifolia* obteve a melhor atividade antioxidante com CE₅₀ de 26,84 ± 0,36 µg/mL, e a maior quantidade de compostos fenólicos com 267,71 ± 10,55 mg EAG/g de amostra, enquanto que o EEB de *X. langsdorffiana* apresentou a maior quantidade de flavonoides totais com 25,10 ± 2,62 mg querc/g de amostra. Na avaliação da atividade fotoprotetora, o EEB de *A. dolichocarpa*, foi o que obteve os melhores resultados, com FPS de 4,03 na concentração de 150 µg/mL, contudo, este valor não atingiu o mínimo de 6 para ser considerado um fotoprotetor ativo. Os resultados deste trabalho mostraram que das três espécies avaliadas, nenhuma apresentou um valor de FPS mínimo para que sejam consideradas ativas, entretanto, foi constatado que *F. longifolia* possui uma ótima atividade antioxidante e uma grande quantidade de compostos fenólicos, portanto, é sugestivo que seja feito um estudo mais aprofundado sobre esta espécie para a possível incorporação desse extrato a uma formulação com um filtro solar, tendo em vista que os antioxidantes podem atuar como um complemento aos protetores solares.

Palavras-chave: Annonaceae. Filtro solar. Fotoproteção.

ABSTRACT

ANDRADE, R.S. Evaluation of the antioxidant and photoprotective activity of species of the Annonaceae family. João Pessoa, 2017. 72 p. Monograph (Job completion of a course in Pharmacy) - Health Sciences Center, Federal University of Paraíba.

The Annonaceae family was cataloged in 1789 by Jussieu, and has approximately 2,500 species and 108 genera, of which, 386 species occur in Brazil, mostly in the North and Northeast. Among them, *Anaxagorea dolichocarpa* ("paixinho"), *Fusaea longifolia* ("envira") and *Xylopia langsdorffiana* ("pimenteira-da-terra"), which are well distributed in the country, however, lack an evaluation of their antioxidant and photoprotective activity. In Brazil skin cancer is one of the most common neoplasms, so it is fundamental to carry out studies with natural products aiming the development of new photoprotectors. Therefore, the objective of this work was to study the antioxidant and photoprotective activity of the crude ethanolic extracts (CEE) of three species mentioned above. The roots of *A. dolichocarpa* were collected in the municipality of Cruz do Espírito Santo (PB), as well the *X. langsdorffiana* leaves, and the stem of *F. longifolia* in the Mocambo reserve (PA). All were dried and pulverized, and from the obtained powder, a maceration with 95% Ethanol was done individually to obtain the crude ethanolic extract of each plant to be worked. In order to test the antioxidant activity *in vitro*, the radical sequestration method (DPPH) was used, where the result obtained is expressed in EC50 and the standard used is ascorbic acid. The total phenolic compounds content of the samples was determined using the Folin-Ciocalteu method, which has gallic acid as standard, while the total flavonoid content was determined by the colorimetric method using aluminum chloride, and quercetin was used as the standard. All analyzes were done in triplicate. To determine the photoprotective activity, the maximum absorbance technique was used, which consists of making a spectrum scan in the wavelength range between 220 and 400 nm, so that from these values, it is possible to calculate the sun protection factor *in vitro*, using the method developed by Mansur. After analyzing the data, it was observed that the CEE of *F. longifolia* obtained the best antioxidant activity with EC50 of $26.84 \pm 0.36 \mu\text{g} / \text{mL}$ and the highest amount of phenolic compounds with $267.71 \pm 10.55 \text{ mg EAG} / \text{g}$ of sample, whereas the CEE of *X. langsdorffiana* presented the highest amount of total flavonoids with $25.10 \pm 2.62 \text{ mg querc} / \text{g}$ of sample. In the evaluation of the photoprotective activity, the CEE of *A. dolichocarpa* was the one that obtained the best results, with photoprotection factor of 4.03 in the concentration of $150 \mu\text{g} / \text{mL}$, however, this value did not reach the minimum of 6 to be considered a photoprotector active. The results of this work showed that none of the three evaluated species had a minimum photoprotection factor value to be considered active, however, it was found that *F. longifolia* has an excellent antioxidant activity and a large amount of phenolic compounds, therefore, it is suggestive that a more in-depth study of this species for a possible incorporation of this extract to a formulation with a sunblock, considering that the antioxidants can act as a complement to the sunscreens.

Keywords: Annonaceae. Sunblock. Photoprotection.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mapa de distribuição geográfica da família Annonaceae.	18
Figura 2 – Partes aéreas e fruto de <i>Xylopia aromatica</i>	19
Figura 3 – Partes aéreas e fruto de <i>Annona muricata</i>	20
Figura 4 – Substâncias isoladas de espécies de Annonaceae	21
Figura 5 – Mapa de distribuição geográfica da espécie <i>Anaxagorea dolichocarpa</i>	23
Figura 6 – Folhas e fruto de <i>Anaxagorea dolichocarpa</i> Sprague & Sandwith	24
Figura 7 – Folhas e fruto de <i>Fusaea longifolia</i>	25
Figura 8 – Mapa de distribuição geográfica da espécie <i>Fusaea longifolia</i>	25
Figura 9 – Mapa de distribuição geográfica do gênero <i>Xylopia</i>	26
Figura 10 – Mecanismo de ação dos antioxidantes primários	33
Figura 11 – Estrutura básica dos flavonoides	36
Figura 12 – Reação entre o radical livre DPPH e um antioxidante (AH [•])	37
Figura 13 – Formação do complexo Flavonoide-AlCl ₃	39

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Análise da CE_{50} de cada amostra e do padrão ácido ascórbico (AA) com o teste ANOVA e pós-teste de Tukey.....	47
Gráfico 2 – Curva de calibração da quantificação de fenóis totais com o ácido gálico como substância padrão. Absorbância 765 nm	48
Gráfico 3 – Análise das médias dos fenóis totais de cada amostra com o teste ANOVA e pós-teste de Tukey	49
Gráfico 4 – Curva de calibração da quantificação de flavonoides totais com a quercetina como substância padrão. Absorbância 415 nm.....	50
Gráfico 5 – Análise das amostras com o teste ANOVA e pós-teste Tukey	51
Gráfico 6 – Comparação das 3 amostras entre os testes realizados.....	52
Gráfico 7 – Espectro da varredura UV do EEB de <i>Fusaea longifolia</i> na faixa de 220-400 nm.....	53
Gráfico 8 – Espectro da varredura UV do EEB de <i>Anaxagorea dolichocarpa</i> na faixa de 220-400 nm.....	54
Gráfico 9 – Espectro da varredura UV do EEB de <i>Xylopija langsdorffiana</i> na faixa de 220-400 nm.....	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – $CE_{50} \pm D.P$ $\mu g/mL$ das amostras e do padrão a partir do teste do DPPH	46
Tabela 2 – Média do teor de fenólicos totais em $mg\ EAG/g \pm D.P$ e coeficiente de variação (CV) ($n=3$) de cada EEB, na concentração de $1\ mg/mL$	48
Tabela 3 – Média do teor de fenólicos totais em $mg\ EAG/g \pm D.P$ e coeficiente de variação (CV) ($n=3$) de cada EEB, na concentração de $1\ mg/mL$	50
Tabela 4 – Absorbâncias dos extratos de cada planta na região 290-320 nm, com suas respectivas concentrações	57
Tabela 5 – Fator de proteção solar para cada amostra de acordo com as suas concentrações	57

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Ponderação empregada no cálculo por espectrofotometria	45
--	----

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 – Fórmula para o cálculo da Atividade sequestradora de radicais.....	43
Equação 2 – Fórmula do fator de proteção solar <i>in vitro</i>	47
Equação 3 – Formula do fator de proteção solar <i>in vitro</i>	56

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA	Análise de variância
CE₅₀	Concentração de uma droga que promove 50% de seu efeito máximo
D.P	Desvio padrão
EAG	Equivalente em ácido gálico
Querc	Quercetina
UV	Ultravioleta
UVA	Ultravioleta A
UVB	Ultravioleta B
UVC	Ultravioleta C
IPeFarM	Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos

OBS: as abreviaturas e os símbolos utilizados neste trabalho e que não constam nesta relação, encontram-se descritas no texto ou são convenções adotadas universalmente.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	18
2.1 Considerações sobre a família Annonaceae	18
2.2 Considerações sobre o gênero <i>Anaxagorea</i> e a espécie <i>Anaxagorea dolichocarpa</i>	22
2.3 Considerações sobre o gênero <i>Fusaea</i> e a espécie <i>Fusaea longifolia</i>	24
2.4 Considerações sobre o Gênero <i>Xylopi</i> a e a espécie <i>Xylopi</i> a. <i>langsdorffiana</i>	26
2.5 Radiação solar	28
2.6 Fotoproteção e filtros solares	30
2.7 Antioxidantes	32
2.8 Compostos fenólicos	35
2.9 Técnicas analíticas	37
2.9.1 Método <i>in vitro</i> utilizando o radical 2,2-difenil-1-picril hidrazil (DPPH) ...	37
2.9.2 Método Folin-Ciocalteu	38
2.9.3 Método Colorimétrico com AlCl ₃	38
2.9.4 Absorbância máxima	39
3 OBJETIVOS	39
3.1 Geral	39
3.2 Específicos	40
4 MATERIAIS E MÉTODOS	40
4.1 Coleta e identificação do material vegetal	40
4.1.1 Coleta e identificação das raízes de <i>Anaxagorea dolichocarpa</i>	40
4.1.2 Coleta e identificação do caule de <i>Fusaea longifolia</i>	41
4.1.3 Coleta e identificação das Folhas de <i>Xylopi</i> a <i>langsdorffiana</i>	41
4.2 Processamento do material vegetal	41
4.2.1 Processamento das raízes de <i>Anaxagorea dolichocarpa</i>	41
4.2.2 Processamento do caule de <i>Fusaea longifolia</i>	41
4.2.3 Processamento das folhas de <i>Xylopi</i> a <i>langsdorffiana</i>	41
4.3 Obtenção do extrato etanólico bruto (EEB)	42
4.3.1 Obtenção do extrato etanólico bruto de <i>Anaxagorea dolichocarpa</i>	42
4.3.2 Obtenção do extrato etanólico bruto de <i>Fusaea longifolia</i>	42
4.3.3 Obtenção do extrato etanólico bruto de <i>Xylopi</i> a <i>langsdorffiana</i>	42

4.4 Atividade antioxidante <i>in vitro</i> : Método de sequestro de radicais (DPPH).....	42
4.5 Determinação de fenóis totais	43
4.6 Determinação de flavonoides totais	44
4.7 Determinação da absorbância máxima	44
4.8 Determinação <i>in vitro</i> do fator de proteção solar (FPS)	45
4.9 Análise estatística	46
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
5.1 Atividade antioxidante	46
5.2 Determinação do teor de fenólicos totais	48
5.3 Determinação do teor de flavonoides totais	50
5.4 Absorbância máxima do EEB de <i>Fusaea longifolia</i>	52
5.5 Absorbância máxima do EEB de <i>Anaxagorea dolichocarpa</i>	54
5.6 Absorbância máxima do EEB de <i>Xylopia langsdorffiana</i>	55
5.7 Fator de proteção solar	56
6 CONCLUSÕES	59
7 REFERÊNCIAS.....	60

1 INTRODUÇÃO

As grandes empresas farmacêuticas vivem em uma busca ininterrupta por novos candidatos a fármacos e cosméticos, com grande enfoque nos produtos naturais. E, no mundo, existe uma enorme variedade de plantas e produtos naturais, com cerca de 300 mil espécies conhecidas, onde, boa parte dessa riqueza se encontra no Brasil, país conhecido pela sua ampla biodiversidade (BARREIRO; BOLZANI, 2009). Ainda no Brasil, uma tendência de mercado é o uso de produtos naturais, principalmente oriundos de plantas, com propósito medicinal, cosmético, inseticida, entre outros, o que, aliada à variedade vegetal, promove uma abrangente área a ser explorada cientificamente (ALMEIDA; JUNIOR, 2013).

Diante dessa imensa riqueza, ainda existe uma falta de conhecimento científico a respeito dela, como por exemplo, muitas plantas sem estudos tanto fitoquímico quanto farmacológico. Assim, uma diversidade de compostos orgânicos certamente associados à variedade da flora brasileira permanece oculta ou pouco estudada (BRAZ-FILHO, 2010). Portanto, fica evidente a necessidade de se realizar estudos com plantas medicinais, verificando seus compostos químicos e efeitos farmacológicos a fim de descobrir produtos que forneçam novos efeitos e terapias. Um dos efeitos que merece destaque, é a atividade antioxidante, a qual é atrelada aos metabolitos secundários da classe dos fenóis, que estão presentes em inúmeras espécies de plantas medicinais (CARNEIRO; SILVA, 2015).

Os antioxidantes vem despertando grande interesse devido a ação destes sobre os radicais livres no organismo, pois antioxidantes são moléculas, que mesmo em pequenas concentrações, são capazes de reduzir ou prevenir a oxidação de outras moléculas. Desta forma, a busca por produtos naturais que tenham tais propriedades vem aumentando significativamente ao longo do tempo uma vez que os riscos de se fazer uso de antioxidantes sintéticos é maior em comparação com os naturais, e com a finalidade de reduzir os efeitos tóxicos, vários estudos vem sendo realizados a fim de descobrir novos antioxidantes de origem natural. (SOUZA et al., 2007; MOON; SHIBAMOTO, 2009; MENDIOLA et al., 2010).

No Brasil, o câncer de pele é a neoplasia mais frequente entre as pessoas de pele branca. O tipo mais comum é o melanoma e o carcinoma basocelular (RAMOS et al., 2010), onde, a grande parte ocorre na região da cabeça, pescoço e face (SANTOS et al., 2007). O carcinoma basocelular é um tumor da camada basal do

epitélio, presente em locais que há presença de pêlos e mais frequente em regiões expostas ao sol, sendo a exposição a radiação ultravioleta solar o principal fator de risco (OCANHA et al., 2011; SILVA et al., 2014). Ao atingir a pele desprotegida, a radiação UV provoca um processo complexo associado a reações químicas e morfológicas, podendo causar a formação de espécies reativas de oxigênio (PALM; O'DONOGHUE, 2007; GONZÁLEZ et al., 2008). Diante disso, a melhor forma de se proteger de alterações causadas pela exposição contínua a radiação UV é utilizando filtro solar ou também chamado de protetor solar, que segundo González et al. (2008) é um elemento profilático e terapêutico frente aos efeitos nocivos da radiação UV.

Vários estudos comprovam que o uso adequado e regular de fotoprotetores reduz o número de casos de queratose actínica, carcinoma de células escamosas e evita o envelhecimento precoce da pele (BARON et al., 2008; GREEN et al., 2011). Dessa forma, fica evidente a necessidade do uso destes produtos e com isso vem a importância de se realizar estudos para o desenvolvimento de novos fotoprotetores. Arelado a isso, a incorporação de extratos vegetais promissores em produtos com atividade fotoprotetora e com poder de neutralizar os radicais livres gerados na pele depois da exposição aos raios solares, constituem uma importante base de pesquisa voltada para os produtos naturais, principalmente quando se considera a imensa vastidão e diversidade da flora brasileira (NASCIMENTO et al., 2009; SAEWAN; JIMTAISONG, 2015; BAKER et al., 2017).

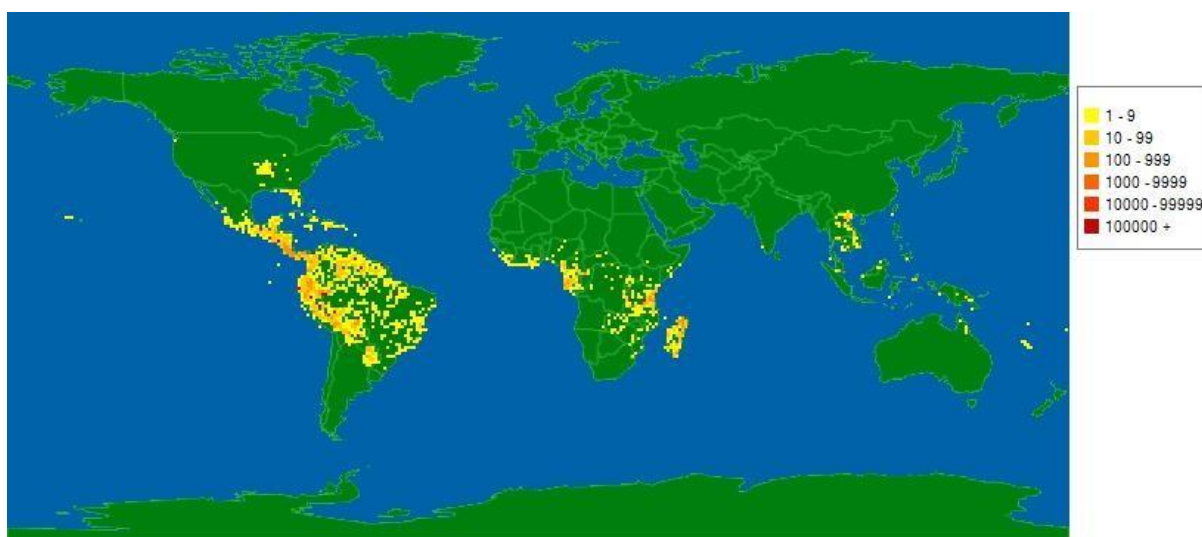
Visando o potencial das plantas medicinais, especificamente da família Annonaceae, que apresentam grandes quantidades de metabólitos secundários como ácidos fenólicos, taninos, flavonoides, substâncias benzênicas, catequinas, alcaloides, acetogeninas, vitaminas e carotenos, onde muitos possuem potencial para ter uma boa atividade antioxidante (LUNA, 2006; LIMA, 2007; SILVA et al., 2009; REIS, 2011). E no Brasil, especialmente na região nordeste, que possui uma vasta quantidade de plantas dessa família, ficou evidente a necessidade de se realizar um estudo acerca da atividade antioxidante e fotoprotetora da família Annonacea, e para isto, este trabalho objetivou-se em realizar o estudo da atividade antioxidante e fotoprotetora de três diferentes espécies de Annonaceae: *Anaxagorea dolichocarpa*, *Fusaea longifolia* e *Xylopia langsdorffiana* visando contribuir com conhecimento destas espécies.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Considerações sobre a família Annonaceae

A família Annonaceae foi catalogada em 1789 por Jussieu (HUTCHINSON, 1974). Possui aproximadamente 2.500 espécies e 108 gêneros, com ampla distribuição nas regiões tropicais (Figura 1), e estão classificadas em quatro subfamílias: Ambavioideae, Anaxagoreoideae, Annonoideae e Malmeoideae (CHATROU et al., 2012). Estas subfamílias correspondem aos principais grupos revelados em filogenias recentes da família. Anaxagoreoideae aparece como o grupo-irmão de todas as Annonaceae, por isso, forma uma subfamília à parte (DOYLE; LE THOMAS 1996; CHATROU et al., 2012). Todas as subfamílias da atual classificação estão representadas no Brasil, onde ocorrem 386 espécies, distribuídas em 29 gêneros (MAAS et al., 2013). A Amazônia abriga grande parte da diversidade de Annonaceae, com 27 gêneros e 280 espécies, e a Mata Atlântica, a maior parte restante: 15 gêneros e 91 espécies dos quais, dois gêneros e cerca de 40 espécies são endêmicos. No Cerrado, são encontrados 10 gêneros, nenhum dos quais endêmico deste domínio, e 47 espécies de Annonaceae (MAAS et al., 2013), algumas de ampla distribuição e bastante comuns, como *Annona crassiflora* Mart., *Duguetia furfuracea* (A.St.-Hil.) Saff. e *Xylopia aromatica* (Lam.) Mart.

Figura 1 - Mapa de distribuição geográfica da família Annonaceae.



(Fonte: <http://www.tropicos.org/Name/42000007?tab=maps#>, Acesso em: 14 de Outubro de 2017).

A família é constituída por árvores, arbustos, e raramente por arbustos escandentes, que se caracterizam por apresentar flores vistosas, andróginas, solitárias, ou em inflorescências, axilares ou terminais, opositifólias ou não; cálice de três sépalas, corola de seis pétalas bisseriadas, geralmente carnosas ou crassas, estames numerosos, gineceu dialicarpelar; fruto sincárpico ou apocárpico, muricado ou não; carpídios sésseis ou estipitados, secos ou carnosos, deiscentes ou indeiscentes; sementes com endosperma ruminado; o indumento das espécies é composto de tricomas simples, estrelados ou escamosos (PONTES et al., 2004).

A família Annonaceae é conhecida principalmente por seus frutos comestíveis, tais como a pinha (*Annona squamosa* L.) e a graviola (*Annona muricata* L.). As espécies desta família são bastante cultivadas, pois suas sementes são fonte de óleos, alguns utilizados na culinária, outros utilizados na produção de sabão, além de serem utilizadas no ramo da perfumaria e terem uso extensivo na medicina popular (LEBOEUF et al., 1982; WOODE et al., 2011). Também são reconhecidas pelo forte odor exalado quando cortam-se os troncos ou ramos, pela presença de fibras longas e resistentes na casca e pela filotaxia dística (LÚCIO, 2011). Exemplos de espécies de Annonaceae são mostrados nas figuras 2 e 3.

Figura 2 – Partes aéreas e fruto de *Xylopia aromatica*.



Fonte: <https://www.flickr.com/photos/tags/xylopia/page2>

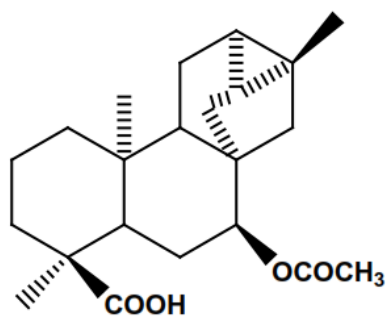
Figura 3 – Partes aéreas e fruto de *Annona muricata*.



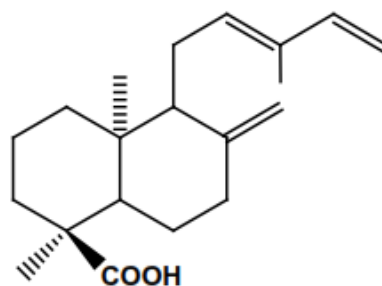
Fonte: <https://www.amazon.com/Annona-muricata-Soursop-Graviola>

Revisões dos constituintes químicos (dos quais, alguns são mostrados na figura 4) presentes em espécies da família Annonaceae, reportam a presença de ácidos fenólicos, flavonoides, óleos essenciais, acetogeninas, diterpenos e mais de 130 alcaloides (COSTA et al., 2009; MOREIRA et al., 2013; SILVA et al., 2015).

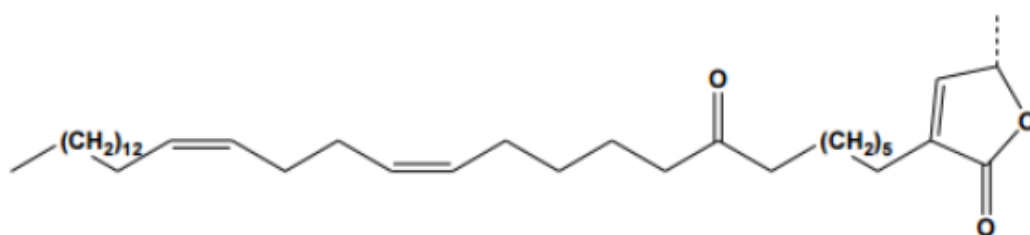
Figura 4 - Substâncias isoladas de espécies de Annonaceae.



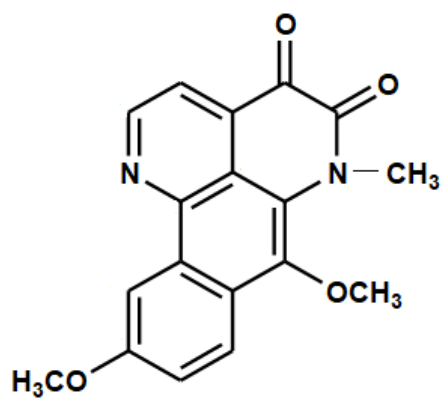
ent-atisano-7 α ,16 α -diol
(TAVARES et al., 2007)



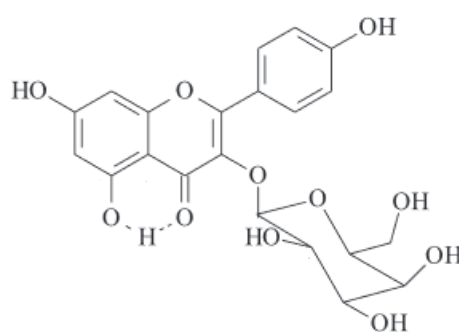
ácido 8(17), 12*E*, 14-labdatrien-18-óico
(TAVARES et al., 2007)



Xymarginatin
(COLMAN-SAIZARBITORIA et al., 2009)



Imbilina 4
(LUCIO, 2015)



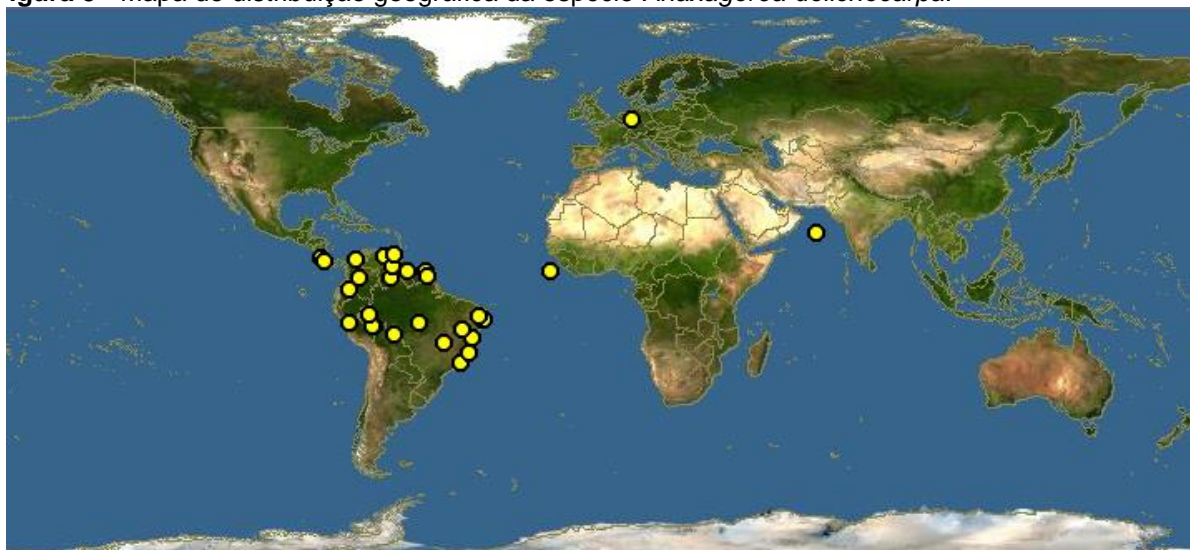
3-O- β -galactopyranosyl-kaempferol
(VEGA et al., 2007)

2.2 Considerações sobre o gênero *Anaxagorea* e a espécie *Anaxagorea dolichocarpa*

O gênero *Anaxagorea* possui 23 espécies, das quais 14 ocorrem no Brasil (MAAS et al., 2013; MAAS; WESTRA, 1984). Estudos morfológicos e moleculares indicam que este gênero, aparenta ser de uma linhagem mais adiantada, sendo considerado irmão taxonômico do resto da família Annonaceae (SCHARASCHKIN; DOYLE, 2006). Este gênero possui uma singela diferença dos demais pelos frutos com carpídios livres e deiscentes. Frutos deiscentes são raros na família, ocorrendo ainda em *Xylopia*. Além disso, os carpídios possuem forma de tacos de golfe, e as sementes geralmente estão dispostas aos pares em cada carpídio (MAAS; WESTRA, 1984, 1985). Neste gênero já foram isolados diversos constituintes químicos, como, alcaloides, xantonas, poliprenoides, esteroides e flavonoides (HOCQUEMILLER et al., 1981; DIAZ, 1997; GONDA et al., 2000). No Brasil, a maior parte das espécies está localizada na Amazônia, uma ocorre somente na Mata Atlântica e *Anaxagorea dolichocarpa* Sprague & Sandw. possui ampla distribuição (MAAS et al., 2013). Esta última é a espécie neotropical de Annonaceae mais comum e bem distribuída.

A espécie *Anaxagorea dolichocarpa* Sprague & Sandw. é bem distribuída na América do Sul, ocorrendo na Colômbia, Venezuela, nas Guianas e no Brasil (MAAS; WESTRA, 1984) (Figura 5). Neste último, é citada para os Estados do Acre, Amapá, Amazonas, Bahia, Goiás, Maranhão, Pernambuco, Rio de Janeiro e Rondônia, habitando florestas úmidas (MAAS; WESTRA 1985). Na Paraíba, foi referida pela primeira vez em 2004 onde foi encontrada em remanescentes de mata atlântica (PONTES et al., 2004). É conhecida popularmente como “paixinho,” “araticum-brabo” “envira-de-jacú” e “senzala” (MAAS et al., 2013). A casca é utilizada na Colômbia e Equador como um dos ingredientes do curare e na Guiana para fazer linha de pesca, fio dental, corda e cestas (MAAS; WESTRA, 1984; SCHULTES; RAFFAUF, 1990).

Figura 5 - Mapa de distribuição geográfica da espécie *Anaxagorea dolichocarpa*.

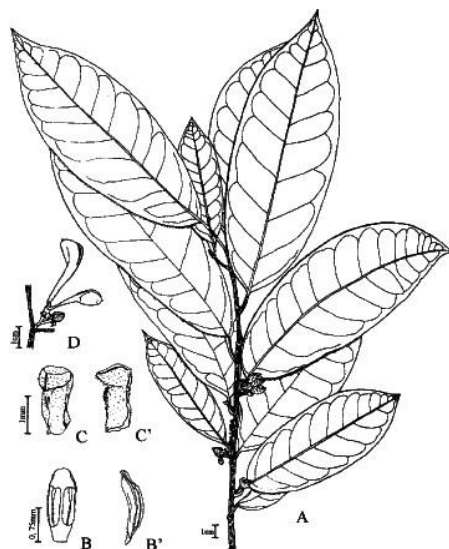


Fonte: <http://www.discoverlife.org/mp/20m?kind=Anaxagorea+dolichocarpa>, Acesso em: 14 de Outubro de 2017).

Pontes et al. (2004) descrevem *Anaxagorea dolichocarpa* (Figura 6) botanicamente como: Árvores. Ramos acinzentados, tricomas submicroscópicos, estrelados, ferrugíneos, na extremidade dos ramos jovens, glabrescentes quando maduros. Folhas com pecíolo sulcado, retorcido, 1,52 cm, tricomas esparsos, submicroscópicos, estrelados, ferrugíneo quando jovem, glabrescente quando maduro; lâmina oblongo-lanceolada ou oblonga, 20-23×6,5-10 cm, cartácea, base aguda a obtusa, ápice acuminado, 11-13 pares de nervuras secundárias, glabra na face ventral, tricomas esparsos, estrelados, ferrugíneos, na face dorsal, principalmente na base e na nervura principal. Flores solitárias, axilares, ou inflorescências com 2-4 flores. Flor ca. de 2×1,5 cm; pedicelo 0,5-1 cm compr., indumento denso, tricomas simples, curtos, hialinos. Sépalas livres, oblongas a ovadas, ca. de 1×0,5 cm, indumento esparsos no ápice e nas margens da face interna, tricomas simples, indumento denso na face externa, principalmente na base, tricomas estrelados, ferrugíneos. Pétalas 6, livres, carnosas; pétalas externas oblongas, ca. 1,5×1 cm, tricomas densos, estrelados, em ambas as faces, principalmente na região mediana da face externa; pétalas internas lanceoladas, côncavas da região mediana a região basal da pétala, ca. 1,5×0,5 cm, tricomas estrelados, ferrugíneos, na região mediana, no ápice e nas margens. Estames laminares, ca. 0,5cm compr., glabros; estaminódios presentes entre os carpelos e os estames, ca. 0,5 cm compr. Carpelos numerosos, angulosos, ca. 0,3cm compr., pubescentes, 2 óvulos basais, estigma papiloso. Fruto apocárpico; carpídios com

deiscência explosiva, ca. 5 cm compr., clavados, estipitados, com tricomas estrelados, esparsos; estipe 2-3cm compr., espessado. Sementes 2 por carpídio, ca. 2x1 cm, sem arilo, pretas, nítidas, glabras.

Figura 6 – Folhas e fruto de *Anaxagorea dolichocarpa* Sprague & Sandwith.



Anaxagorea dolichocarpa
 A) Ramo com flor e botões florais.
 B) Estames, vista ventral.
 B') Estames vista lateral.
 C) Carpelo, vista ventral.
 C') Carpelo, vista lateral. D) Fruto.

Fonte: <https://www.kew.org/science/tropamerica/imagetdatabase/>
 (Adaptada de PONTES et al., 2004)

Na literatura há poucos relatos sobre a constituição química desta espécie. Em 1981, Hocquemiller et al. reportaram o isolamento de dois alcaloides aporfínicos (Anaxagoreína e asimilobina). Andrade et al. (2007) realizou a caracterização do óleo essencial dos frutos. Além destes, Lúcio (2015) isolou, entre outros, o alcaloide 3-metoxisampangina pela primeira vez para *Anaxagorea dolichocarpa* e o alcaloide Imbilina 4, relatado pela primeira vez na literatura.

2.3 Considerações sobre o gênero *Fusaea* e a espécie *Fusaea longifolia*

O gênero *Fusaea* foi catalogado em 1914 por William Edwin Safford (SAFFORD, 1914), este é um gênero muito pequeno, composto apenas por duas espécies, *Fusaea longifolia* (Aubl.) Saff e *Fusaea decurrens* R. E. Fr. (CHATROU; HE, 1999). Esse gênero faz parte da subfamília Annonoideae e é membro da tribo Duguetieae (MAAS et al., 2013). *Fusaea longifolia* (figura 7) é uma árvore com raminhos densamente sedosos-ferrugíneos, entre nós de 2 a 3 cm de largura, folhas

papiráceas, oblongas, longas e estreitamente acuminadas, fruto sincárpico, globoso, sementes pequenas e de polpa comestível, possui folhas com nervura primária impressa à plana na face adaxial, além disso, possui estaminódios externos aos estames (CHATROU; HE, 1999; COUVREUR et al., 2012).

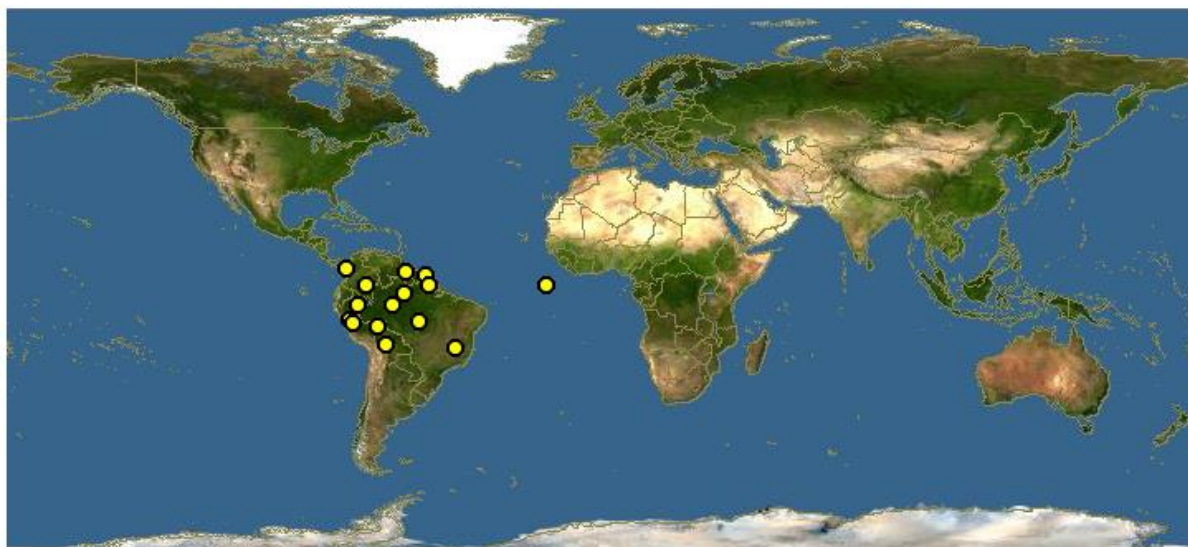
Figura 7 – Folhas e fruto de *Fusaea longifolia*.



Fonte: <https://www.kew.org/science/Annonaceae>

É conhecida popularmente como “envira”, “araticum”, “envireira” e “espitana”. Tem boa distribuição na América do Sul, presente na Colômbia, Venezuela, Suriname, Bolívia, Equador, Peru, Brasil e nas Guianas (CHATROU; HE, 1999). No Brasil, ocorre nos estados do Acre, Amapá, Amazonas, Maranhão, Mato grosso, Pará, Rio de Janeiro, Rondônia e Roraima.

Figura 8 - Mapa de distribuição geográfica da espécie *Fusaea longifolia*.



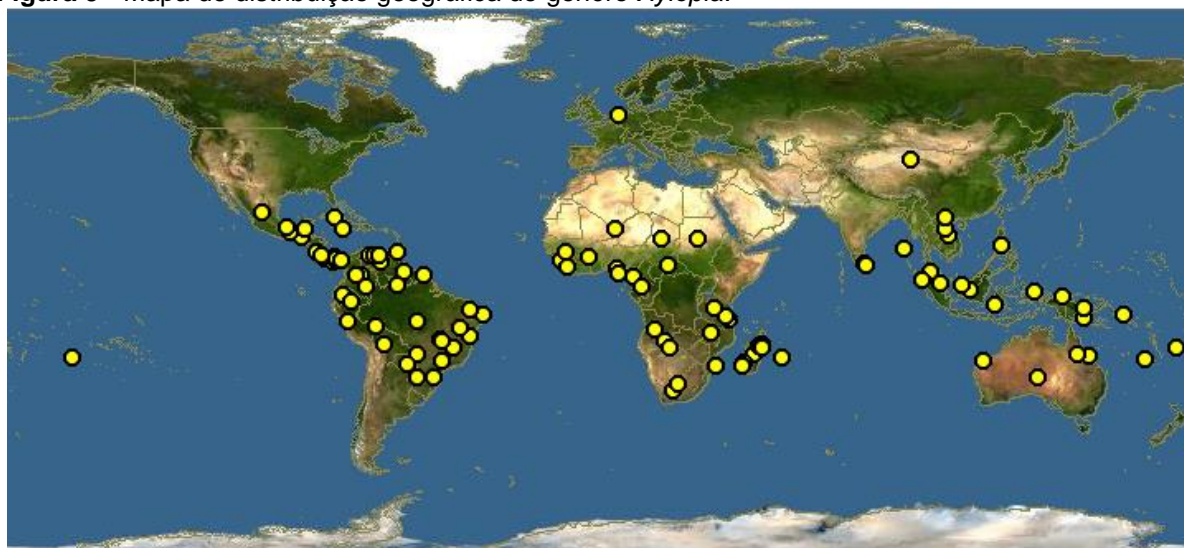
Fonte: <http://www.discoverlife.org/mp/20m?kind=Fusaea+longifolia>, Acesso em: 15 de Outubro de 2017).

Esta espécie, bem como seu gênero, tem poucos estudos fitoquímicos realizados até o momento. Em 1976 foi caracterizado um novo alcaloide aporfinico denominado fuseína (BRAZ-FILHO 1976), outro estudo sobre essa espécie foi feito por Tavares et al. (2005) que isolaram dois alcaloides, stepholidine e O-methylmoschatoline, e nesse mesmo estudo, foi feita a análise dos compostos voláteis através do óleo essencial do tronco desta espécie, verificando que a maior parte dos componentes desse óleo eram sesquiterpenos (TAVARES et al., 2005).

2.4 Considerações sobre o gênero *Xylopia* e a espécie *Xylopia. langsdorffiana*

O gênero *Xylopia* faz parte da subfamília Annonoideae, da tribo Xylopieae, possuindo cerca de 160 espécies com distribuição pantropical, sendo o mais bem distribuído entre as Annonaceae (DIAS, 1988; CHATROU et al., 2012). Possui ampla distribuição no mundo (Figura 9), com presença de aproximadamente 40 espécies na Ásia e Oceania, 70 na África, e 50 nas Américas, das quais 32 estão no Brasil (DIAS, 1988; MAAS et al., 2013). As espécies deste gênero são em sua maioria árvores ou arbustos, com carpódios livres nos seus frutos, semelhante com os de *Guatteria*, mas em *Xylopia*, possuem mais de uma semente seus carpódios são deiscentes. No Brasil, suas espécies estão amplamente distribuídas, ocorrendo desde o Amazonas ao Paraná, no Cerrado, Mata atlântica, Sul e Sudeste (DIAS, 1988; MAAS et al., 2013).

Figura 9 - Mapa de distribuição geográfica do gênero *Xylopia*.



Fonte: <http://www.discoverlife.org/mp/20m?kind=Xylopia>, Acesso em: 15 de Outubro de 2017).

Suas espécies são bastante conhecidas por seus usos na medicina popular e suas atividades farmacológicas, tais como: diurético para tratamento de edemas (TAKARASHI et al., 2006), atividade citotóxica frente a leucemias (SUFFREDINI et al., 2007), atividade antiparasitária (RODRIGUES et al., 2006; OSORIO et al., 2007), antimicrobiana (MÂCEDO; FERREIRA, 2004), antioxidante (KARIOTI et al., 2004), hipotensora (NASCIMENTO et al., 2006) e agente antinoceptivo (NISHIYAMA et al., 2009). Além de todas essas atividades, um grande número de componentes químicos tem sido isolado deste gênero, dentre eles, diterpenos, sesquiterpenos, acetogeninas, alcaloides e flavonoides (HARRIGAN et al., 1994; ANDRADE et al., 2003; MOREIRA et al., 2007; VEGA et al., 2007; COLMAN-SAIZARBITORIA et al., 2009).

A espécie *Xylopia langsdorffiana* St-Hil & Tul. é uma árvore com 5-7 m de altura, folhas alternadas, lanceoladas, inteiras, seríceas, flores roxas e pendunculadas. Popularmente conhecida como “pimenteira-da-terra” e “pindaúva-fêmea”, é bastante utilizada na carpintaria e caixotaria, por servir de matéria prima para a preparação de móveis (CORREA, 1984). Em um estudo fitoquímico realizado por Tavares et al. (2007) permitiu o isolamento de três diterpenos, sendo um deles o ácido 8(17), 12*E*, 14-labdatrien-18-óico. Também foram isolados desta espécie alcaloides, diterpenos e flavonoides (SILVA et al., 2009)

Estudos farmacológicos sobre *Xylopia langsdorffiana* verificaram uma proeminente atividade citotóxica sobre células leucêmicas, efeito atribuído aos diterpenos presentes nesta espécie (CASTELLO-BRANCO et al., 2009), e ainda atividade espasmolítica em íleo de cobaia (MACÊDO, 2008), útero de rata (TRAVASSOS, 2010) e traqueia de cobaia (MARTINS, 2013). As folhas apresentaram efeito gastroprotetor e cicatrizante (MONTENEGRO, 2011), e o óleo essencial dos seus frutos demonstrou atividade antitumoral (MOURA, 2012). Apesar dos vários estudos, tanto fitoquímicos quanto farmacológicos sobre esta espécie, até o momento não foi feito nenhum a respeito de sua atividade antioxidante e fotoprotetora. Diante disso, e a gama de compostos isolados neste gênero e espécie, ficou evidente a necessidade de se realizar um estudo a fim de verificar se ela possui ou não uma boa atividade antioxidante.

2.5 Radiação solar

A radiação solar é a principal fonte de energia para os processos físicos, químicos e biológicos que ocorrem no sistema Terra-atmosfera (LOHMANN et al., 2006). E nos últimos anos, as pessoas se expõem cada vez mais ao sol, o que traz uma sensação de bem estar e benefícios, como o aumento da síntese de vitamina D e até mesmo o controle com sintomas depressivos, porém isso quando em exposições controladas (MANCEBO et al., 2014), quando ocorre um excesso de exposição à radiação solar (UV) os efeitos são prejudiciais, como lesões cutâneas e degenerativas, aceleração do envelhecimento e o desenvolvimento de carcinomas de pele (SAEWAN; JIMTAISONG, 2015).

O espectro solar que atinge a terra é formado por três tipos de comprimento de onda, sendo as ultravioletas (UV) (100-400 nm), visíveis (Vis) (400-800 nm) e Infravermelhas (IV) (acima de 800 nm) (MANSUR et al., 1996; CORRÊA, 2012). Cada tipo de comprimento de onda é percebido pelo organismo de uma maneira diferente, e os efeitos danosos estão relacionados diretamente com a interação entre as diferentes faixas de comprimentos de onda (CHO et al., 2009). A radiação infravermelha (IV) é percebida pelo corpo humano através do calor, assim, transmitindo energia e elevando a temperatura da pele. A pele, quando exposta diretamente radiação IV pode ter sua temperatura elevada para mais de 40 °C devido à conversão da energia em calor, o que pode gerar alterações na pele como a formação de eritema, hiperpigmentação, descamação e atrofia epidérmica (WEBER et al., 2005; CHO et al., 2009). Já a radiação visível é percebida através de cores, juntas, as duas podem induzir à pigmentação com produção de melanina. Em um estudo *in vivo*, comprovou-se que a pigmentação ocorre mesmo sem a presença da radiação UV, e que a luz visível contribui para a produção de radicais livres, podendo causar danos ao DNA (MAHMOUD et al., 2008).

Antes de começar a falar sobre a radiação UV, é importante ressaltar que a energia da radiação solar aumenta com a redução do comprimento de onda, dessa forma, a radiação UV, que possui o menor comprimento de onda, é a mais energética, logo, a mais propensa a causar danos na pele, pois ela é percebida através de reações fotoquímicas (PETRY et al., 2008). A radiação ultravioleta é subdividida em três bandas ou regiões: UVC (100-290 nm), UVB (290-320 nm), UVA (320-400 nm). A região UVC é conhecida como região germicida ou bactericida, pois

é a que tem a maior carga energética, o que está associado ao seu menor comprimento de onda, sendo altamente lesiva ao homem e pode causar efeitos mutagênicos e carcinogênicos. Ela é quase que completamente absorvida pela camada de ozônio, dessa forma a quantidade dessa radiação que atinge a terra é insignificante, contudo, a redução da camada de ozônio, devido a fatores ambientais e de poluição tem levado a um aumento da radiação UVC e UVB que incide sobre a terra, dessa forma ocasionando um maior número de queimaduras e aumentando o índice de câncer de pele (NASSER, 2008; SAEWAN; JIMTAISONG, 2015).

A UVB é intensamente absorvida pela epiderme, causando com frequência eritemas na pele, além de estimular a produção de melanina induzindo o bronzeamento e sendo responsável pela transformação do ergosterol epidérmico em vitamina D (MARTINS, 1993). A exposição frequente e intensa à radiação UVB pode causar lesões no DNA, além de suprimir a resposta imunológica da pele. Desta forma, além de aumentar o risco de câncer de pele, sua atividade reduz a chance de uma célula maligna ser reconhecida e destruída pelo organismo (BUDDEN; BOWDEN, 2013). Já a UVA é aproximadamente mil vezes menos eritematosa que a UVB, porém tem uma penetração mais profunda chegando a atingir a derme (CALZAVARA et al., 2013), tendo uma alta capacidade de originar radicais livres, causar o envelhecimento precoce da pele e contribuir para o desenvolvimento do câncer de pele (SOUZA, 2004). Além disso, a radiação UVA também provoca redução na quantidade de células de Langerhans e aumento na quantidade de células inflamatórias presentes na derme (PALM; O'DONOGHUE, 2007).

Outro fato importante a ser mencionado, é a ação da radiação solar na formação de radicais livres, pois como já dito, os raios UVA e UVB são capazes de provocar a produção deles, fazendo com que ocorra uma diminuição nos antioxidantes naturais da pele. (HALLIWELL, 1987; SVOBODOVA et al, 2006; MAVERAKIS et al, 2010). Na pele, a radiação ultravioleta induz a produção de espécies reativas no oxigênio como: oxigênio singleto, provavelmente peróxido de hidrogênio e radicais superóxido (SKLAR et al., 2013). Embora os danos induzidos pela radiação UV possam ser causados pelo tipo UVB e pela luz visível, os danos ao DNA, proteínas, e membranas celulares causados por espécies reativas de oxigênio tem sido pensados como a chave da ação mutagênica da radiação UVA (RUNGER & KAPPES, 2008). As espécies reativas induzidas pela radiação UVA aumentam a síntese de melanina e peroxidação lipídica, levando a inflamação

(KULLAVANIJAYA & LIM, 2005), além disso, elas são o gatilho para a ativação de metaloproteinases de matriz, liberação de proteínas pro-inflamatórias e fatores de crescimento que alteram tanto o colágeno quanto a elastina da matriz extracelular, levando a degradação da integridade da estrutura da pele (CHEN et al, 2012).

Sabendo os riscos que a radiação solar tem sobre a pele humana, fica evidente a necessidade de se proteger, e para isso é necessário utilizar de artifícios para tal. As preparações dermatológicas que contenham filtros protetores são uns destes artifícios que podem ser utilizados a fim de prevenir danos na pele causados por exposições à radiação solar. Nesse contexto, os produtos naturais surgem como uma ótima fonte para o desenvolvimento de novos produtos para a proteção solar, devido a presença de metabolitos secundários como fenóis, que podem vir a apresentar um ótimo efeito antioxidante e fotoprotetor (SVOBODOVÁ et al, 2009; NICHOLS & KATIYAR, 2010).

2.6 Fotoproteção e filtros solares

A fotoproteção é o conjunto de medidas direcionadas a reduzir a exposição ao sol e prevenir o desenvolvimento do eritema, câncer de pele, melanoma cutâneo, fotoenvelhecimento e doenças decorrentes da exposição exacerbada ao sol (RAMOS et al., 2009). Essas medidas abrangem desde a fotoproteção através de roupas, acessórios, fotoprotetores e filtros solares (BALOGH et al., 2011). Filtros solares são preparações para uso externo ou tópico, que suavizam a radiação ultravioleta antes que esta penetre na pele (SOUZA, 2004), isso se dá por reflexão, absorção ou dispersão da radiação. Os produtos que refletem a radiação UVB e um pouco de radiação UVA, por meio de filme de partículas metálicas inertes, são usualmente à base de óxido de zinco ou dióxido de titânio, são chamados de protetores solares físicos. Os filtros absorventes (protetores químicos) atuam principalmente sobre UVB, absorvendo e reemitindo a radiação sob uma forma de quantidade insignificante de calor (PETRI, 2005). Para ser um bom protetor solar é necessário apresentar as seguintes características: ser estável na pele humana, resistente à água, inodoro, incolor, ser atóxico; não ser sensibilizante, irritante ou mutagênico; não ser volátil; possuir características solúveis apropriadas; não ser absorvido pela pele; não alterar sua cor; não manchar a pele e vestimentas; ser

compatível com a formulação, material de acondicionamento e ser estável no produto final (JOHNCOCK, 2000; FLOR et al., 2007).

Já a eficácia dos filtros é dependente da capacidade de absorção da energia radiante, que é proporcional à concentração dos compostos absorvedores e/ou refletores de radiação eletromagnética que o compõe, do intervalo de absorção e do comprimento de onda onde ocorre absorção máxima. A associação de diferentes filtros, químicos e físicos, em formulações é um recurso para melhorar a eficácia e potencializar o FPS, pois quando se utiliza uma combinação de filtros UVA e UVB permite uma proteção de amplo espectro à pele (PAOLA, 1999), já que os efeitos da radiação UVA correspondem a 67% do dano oxidativo e podem ser combatidos com o uso de filtros orgânicos, enquanto que os da UVB correspondem a 33% do dano oxidativo e podem ser combatidos com filtros inorgânicos (BALOGH et al., 2011; SCHALKA et al., 2012; ZARATTI et al., 2014;).

Os filtros solares são classificados como orgânicos ou inorgânicos. Os orgânicos são formados por moléculas que possuem como característica um grupo cromóforo que tenha um sistema de elétrons π conjugado, que possa absorver energia de comprimento de onda específico e transformar em outro tipo de energia (JANSEN et al., 2013). Estas moléculas são compostos aromáticos que apresentam um grupo doador de elétrons, como uma amina ou um grupo metoxila, na posição orto ou para do anel aromático, onde o tipo de substituinte e o lugar dele no anel são fatores cruciais para suas propriedades espectroscópicas no UV. Ao absorver a radiação UV, os elétrons situados no orbital π HOMO (orbital molecular preenchido de mais alta energia) são excitados para orbital π^* LUMO (orbital molecular vazio de mais baixa energia) e, ao retornarem para o estado inicial, o excesso de energia é liberado em forma de calor. É importante destacar que quanto maior o número de ligações duplas conjugadas na molécula faz com que sua absorção máxima seja deslocada para maiores comprimentos de onda, resultando em uma absorção mais forte. Por este motivo que existem filtros UVB, UVA e de amplo espectro (FLOR et al., 2007; JANSEN et al., 2013).

Nos filtros inorgânicos, os processos de proteção envolvidos são diferentes daqueles das moléculas orgânicas. Os processos envolvem tanto a absorção quanto o espalhamento da radiação, dessa forma, agem como uma barreira física que pode refletir ou dispersar a luz visível e UV, assim não permite a passagem da radiação

para as camadas da pele. Os filtros inorgânicos são constituídos de partículas com tamanho de ordem da radiação que se quer espalhar, e as duas mais utilizadas são o dióxido de titânio e óxido de zinco as quais não são absorvidas pela pele. Os bloqueadores inorgânicos apresentam relativa estabilidade e geralmente, são mais seguros clinicamente, sendo considerados atóxicos estáveis e a primeira escolha para fotoprotetores destinados a pacientes com histórico de alergia. Entretanto, sob o ponto de vista da cosmética, podem possuir inconvenientes devido à estética, pois pode deixar uma película branca na pele devido à barreira física criada por ele, o que para alguns torna-se desagradável. (LAUTENSCHLAGER et al., 2007; GONZÁLEZ et al., 2008; SCHALKA; REIS, 2011; CRIADO et al., 2012).

Contudo, apesar dos mais diversos protetores solares disponíveis no mercado, até o presente momento, não existe uma medida fotoprotetora que isoladamente, garanta uma fotoproteção adequada, por isso a Sociedade Brasileira de Dermatologia (SBD) recomenda a combinação do maior número possível de medidas como estratégia mais correta, além de não se expor no período entre 10 e 15 horas (SBD, 2013). E nesse contexto, o estudo de compostos de origem natural vem se intensificando nos últimos anos, pois eles constituem uma valiosa fonte de recursos, tais como os compostos fenólicos, que podem adicionar atividade antioxidante em formulações, para que sejam incorporados em novos produtos fotoprotetores, pois o uso de antioxidantes quando aplicados topicamente parece ser muito promissor (ALLEMANN; BAUMMANN, 2008; MATSUI et al., 2009; WU et al., 2011).

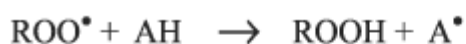
2.7 Antioxidantes

Os antioxidantes podem ser definidos como substâncias que diminuem ou impedem a oxidação de substratos oxidáveis (HALLIWELL et al., 1995). Podem possuir ou não atividade enzimática, sendo a catalase, glutatona redutase e glutatona peroxidase exemplos de antioxidantes com atividade enzimática, já os que não possuem atividade enzimática podem ser de origem sintética e natural (MOREIRA; MANCINI, 2004; BARREIROS et al., 2006). Os antioxidantes podem atuar em diferentes formas e de acordo com o seu mecanismo de ação podem ser classificados em primários e secundários, contudo, alguns possuem mais de um mecanismo de ação e estes estão agrupados em oxidantes de múltipla função

(ESKIN; PRZYBYLSKI, 2001; RAMALHO; JORGE, 2006).

Os primários, são em grande maioria substâncias com núcleo fenólico e vários substituintes no anel que atuam diretamente sobre os radicais livres, atrasando ou mesmo inibindo a etapa de iniciação ou etapa de propagação da auto-oxidação dos radicais livres. Os antioxidantes vão agir doando átomos de hidrogênio aos radicais livres (ROO^\bullet , RO^\bullet e R^\bullet) (Figura 10), formando espécies inativas para a reação em cadeia, pois o radical proveniente do antioxidante (A^\bullet) é estabilizado por ressonância formando um híbrido de baixa energia, com incapacidade de iniciar ou propagar reações oxidativas (WANASUNDARA; SHAHIDI, 2005; RAMALHO; JORGE, 2006; REISCHE et al., 2008; FOTI; AMORATI, 2016).

Figura 10 – Mecanismo de ação dos antioxidantes primários.



onde: ROO^\bullet e R^\bullet - radicais livres; AH - antioxidante com um átomo de hidrogênio ativo e A^\bullet - radical inerte

Fonte: (RAMALHO; JORGE, 2006)

Grande parte dos antioxidantes primários que atuam como sequestradores de radicais livres são polifenóis, com uma ou mais hidroxilas (OH) no anel aromático, dentre eles temos os sintéticos, como por exemplo: butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), e ácidos fenólicos, flavonoides, carotenoides e tocoferóis, que são naturais. É válido ressaltar que quanto maior o número de hidroxilas ligadas ao anel, maior é a atividade antioxidante do composto fenólico (RAMALHO; JORGE, 2006; WANASUNDARA; SHAHIDI, 2005).

Os antioxidantes secundários não são capazes de converter radicais livres em moléculas estáveis, portanto, não agem diretamente sobre os radicais livres, mas reduzem a velocidade de oxidação por diversos tipos de mecanismos de ação, como: agentes quelantes, removedores de oxigênio, sinérgicos e antioxidantes mistos (RAMALHO; JORGE, 2006; WANASUNDARA; SHAHIDI, 2005; REGINATO-D'ARCE, 2006).

- **Agentes quelantes:** Esses agentes se complexam com íons metálicos a partir de um par de elétrons não compartilhado em sua estrutura molecular (REISCHE et al., 2008).
- **Removedores de oxigênio:** Atuam como agentes redutores e capturam o oxigênio presente no meio através de reações químicas, dessa forma, impedindo a propagação da auto-oxidação (REISCHE et al., 2008).
- **Sinérgicos:** São substâncias com pouca ou nenhuma atividade antioxidante, mas que quando combinados com antioxidantes primários, podem aumentar o efeito deles (REISCHE et al., 2008).
- **Mistos:** São os que possuem mais de um mecanismo de ação, dentre eles, estão os compostos presentes em plantas como: flavonoides e ácidos fenólicos (SANTOS et al., 2012).

Sabendo como os antioxidantes atuam, pode-se ver a importância deles frente aos radicais livres, que são moléculas formadas normalmente durante a respiração e a digestão de alimentos e podem causar danos às células e levar a diversas doenças graves, como aterosclerose e câncer. São instáveis, pois seus átomos apresentam um par de elétrons desemparelhados, necessitando atingir a estabilidade através da obtenção de elétrons de outros componentes. Cada vez que uma proteína ou um lipídeo perde um elétron para um radical livre, essas biomoléculas sofrem transformações irreversíveis na forma e na função, tornando-se um novo radical livre, ocorrendo, portanto, uma espécie de reação em cadeia. Assim, os antioxidantes têm a função de proteger o organismo combatendo a ação danosa dos radicais livres. Alguns antioxidantes são produzidos pelo próprio corpo e outros (como as vitaminas C e E, beta-caroteno, selênio, alguns aminoácidos e o zinco) precisam ser ingeridos (PIENIZ, 2009; BONI et al., 2010).

Nesse contexto, entram os extratos vegetais, que são ricos em metabolitos secundários que apresentam uma boa atividade antioxidante, como, cumarinas, flavonoides, taninos, alcaloides, lignanas, tocoferóis e carotenoides (WOLFE et al., 2003; MANACH et al., 2004). Os compostos antioxidantes de fontes vegetais têm demonstrado, em experiências *in vitro*, que são capazes de proteger contra os danos da oxidação, principalmente pela sua propriedade redox, que atua na absorção e neutralização de radicais livres (ZHENG; WANG, 2001; PACHECO et al., 2016). Portanto, cada vez mais se sustenta a tese que plantas e seus metabolitos

secundários constituem uma rica fonte de pesquisas, que tenham o intuito de descobrir novos antioxidantes para serem veiculados em novos produtos cosméticos como protetores solares a fim de minimizar o dano oxidativo causado por radiação solar em células e DNA humano, tendo em vista que a associação de um oxidante, pode sim melhorar o efeito fotoprotetor de produtos com esta finalidade (ANDRÉ et al., 2010; MAGANHA et al., 2010; WU et al., 2011).

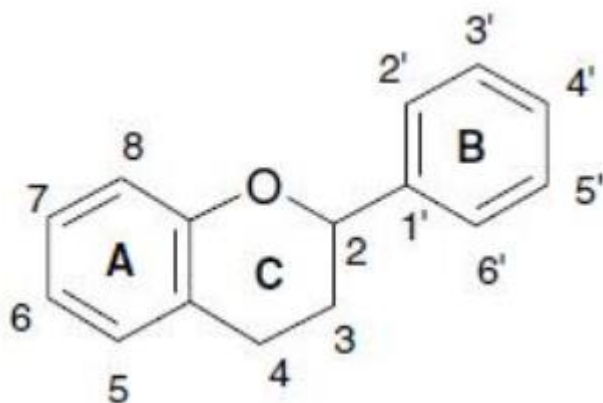
2.8 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são estruturas químicas que apresentam hidroxilas e anéis aromáticos, nas formas simples ou de polímeros, estando entre os melhores antioxidantes na natureza por serem capazes de doar rapidamente prótons de H⁺ para estabilizar espécies reativas de oxigênio (ROO•), e a habilidade antioxidante destes compostos esta diretamente relacionada à estrutura dos seus substituintes no anel aromático (FOTI; AMORATI, 2016). Os compostos fenólicos englobam vários metabolitos secundários das plantas, que geralmente estão envolvidos em mecanismos de defesa contra radiação UV e patógenos. Estes compostos foram classificados em três categorias: pouco distribuídos na natureza, polímeros e largamente distribuídos na natureza, e podem ser divididos em pelo menos dez grupos de acordo com o número e arranjo dos seus átomos de carbono (MANACH et al., 2004; ANGELO; JORGE, 2007; CROZIER et al., 2009).

Os fenólicos pouco distribuídos na natureza possuem um pequeno número, porém são encontrados com certa frequência. Neste grupo estão os fenóis simples, o catecol, a hidroquinona, resorcinol e os aldeídos derivados dos ácidos benzoicos (SOARES, 2002). No grupo dos polímeros, estão os taninos e lignanas. E nos compostos largamente distribuídos na natureza estão os fenólicos encontrados em praticamente todo reino vegetal. Esse grupo pode ser dividido em flavonoides, ácidos fenólicos, e cumarinas (KING; YOUNG, 1999, ANGELO; JORGE, 2007; ALU'DATT et al., 2017). Os flavonoides possuem uma estrutura básica formada por dois anéis aromáticos (A e B) ligados por uma ponte de três carbonos, geralmente na forma de um anel heterocíclico com um oxigênio (C) (Figura 11) e podem ser subdivididos em flavonóis, flavonas, isoflavonas, flavanonas, antocianidinas e flavanóis (YANISHLIEVA, 2001; LAVLE et al., 2016). Os ácidos fenólicos são moléculas que possuem um grupamento carboxílico funcional ligado ao anel

fenólico. Podem ser divididos em: derivados de ácido benzoico (ex: ácido gálico) e derivados de ácido cinâmico (ex: ácidos p-cumárico, cafeico, ferúlico e sinápico (MANACH et al., 2004; EL GHARRAS, 2009).

Figura 11 – estrutura básica dos flavonoides.



Fonte: (YANISHLIEVA-MASLAROVA, 2001).

Vários efeitos benéficos à saúde têm sido atribuídos aos compostos fenólicos e diversos pesquisadores têm realizado estudos biológicos e farmacológicos de compostos fenólicos (VICENTE, et al., 2014; SCHERER; GODOY, 2014). Tais estudos têm ampliado as propriedades farmacológicas desses compostos, sendo uma delas a atividade antioxidante (OKUDA; ITO, 2011). Tratamentos efetivos contra doenças cardiovasculares e certos tipos de câncer estão sendo realizados utilizando fontes de produtos naturais em particular os compostos fenólicos (JUNIOR et al., 2014).

Os compostos fenólicos atuam como antioxidantes, não somente por sua habilidade em doar hidrogênio ou elétrons, mas também em virtude de seus radicais intermediários estáveis, que impedem a oxidação e por consequência dificulta a formação de radicais livres no organismo e protege as moléculas de DNA, podendo inibir algumas fases dos processos carcinogênicos. A atividade anticarcinogênica dos fenólicos tem sido relacionada à inibição dos cânceres de cólon, esôfago, pulmão, fígado, mama e pele. (PIMENTEL, 2005; SILVA, 2010). Além dessas atividades, os compostos fenólicos, em particular os flavonoides, possuem uma ótima atividade fotoprotetora quando aplicados na pele, pois eles são capazes de absorver a luz UV com uma faixa de absorção com pico máximo entre 240-280 nm e

outro entre 300-550 nm (FERDINANDO et al., 2014; FREITAS et al., 2015; KLIMOVÁ et al., 2015).

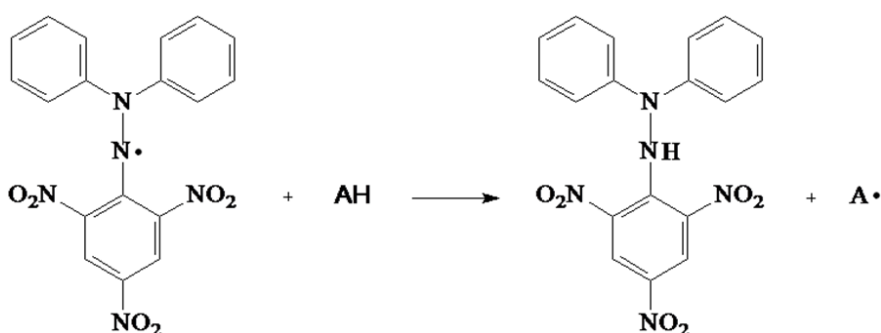
2.9 Técnicas analíticas

Para realizar a atividade antioxidante, determinar o teor de fenóis, flavonoides totais e efeito fotoprotetor, foi necessário utilizar-se de algumas técnicas analíticas, as quais serão brevemente descritas a seguir.

2.9.1 Método *in vitro* utilizando o radical 2,2-difenil-1-picril hidrazil (DPPH)

O teste do DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil) é um método colorimétrico rápido e eficaz, utilizado para testar a atividade antioxidante de um composto baseada na redução do radical orgânico DPPH. O radical DPPH é um composto orgânico estável contendo nitrogênio com uma forte absorção em λ 517 nm e uma cor púrpura escura, que depois de reagir com compostos antioxidantes é reduzido, e a cor muda para amarela, essa mudança de cor pode ser medida por um espectrofotômetro e quantificada. Para expressar a atividade antioxidante utiliza-se o CE_{50} , ou seja, a concentração efetiva necessária para o antioxidante reduzir em 50% o DPPH inicial da reação (REZENDE, 2010).

Figura 12 - Reação entre o radical livre DPPH e um antioxidante (AH).



Fonte: (REZENDE, 2010)

A capacidade de sequestro do radical livre DPPH pela amostra é determinada pela habilidade de transferência de hidrogênio para o radical livre estável DPPH, ou seja, quanto maior essa capacidade de transferência, maior a atividade antioxidante.

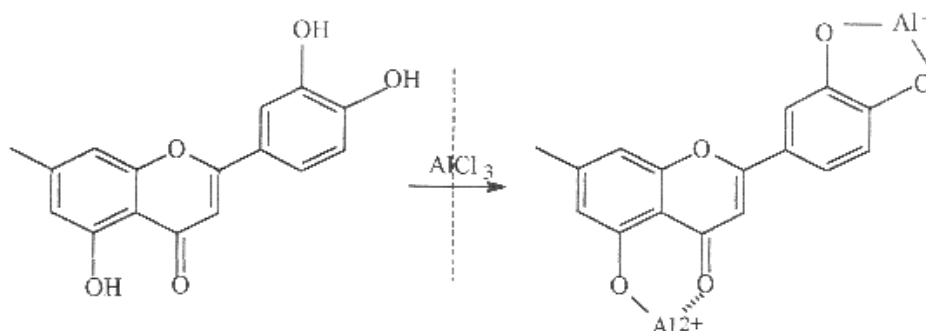
2.9.2 Método Folin-Ciocalteu

Para realizar a quantificação de compostos fenólicos, um dos métodos mais utilizados na literatura é o que utiliza o reagente de Folin-Ciocalteu (RFC). O reagente de Folin-Ciocalteu consiste na mistura dos ácidos fosfomolibdico e fosfotúngstico, na qual o molibdênio se encontra no estado de oxidação 6+ (cor amarela no complexo $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Porém, em presença de agentes redutores, como os compostos fenólicos ou outros de natureza não fenólica, formam-se os complexos molibdênio-tungstênio azuis, nos quais a média do estado de oxidação dos metais está entre 5 e 6, assim a coloração permite a determinação da concentração das substâncias redutoras (DE OLIVEIRA, 2009).

2.9.3 Método Colorimétrico com AlCl_3

Para realizar a quantificação de flavonoides totais, foi utilizado o método colorimétrico por espectrofotometria UV utilizando-se AlCl_3 (SCHMIDT; ORTEGA, 1983). Onde, o cátion alumínio forma complexos estáveis com os flavonóides em metanol, ocorrendo na análise espectrofotométrica um desvio para maiores comprimentos de onda e uma intensificação da absorção. Dessa maneira, é possível determinar a quantidade de flavonoides, evitando-se a interferência de outras substâncias fenólicas, principalmente os ácidos fenólicos, que invariavelmente acompanham os flavonoides nos tecidos vegetais. A leitura é feita em espectrofotômetro na faixa de 410 nm, utilizando-se cloreto de alumínio a 2% em metanol. Nessas condições, o complexo flavonoide-Al, absorve em um comprimento de onda bem maior do que o flavonoide sem a presença do agente complexante, já os ácidos fenólicos, mesmo os que formam complexos com AlCl_3 , absorvem em comprimentos de onda muito inferiores evitando-se dessa maneira interferências nas medidas de absorbância (PETRY et al., 2001; FERNANDES et al., 2012).

Figura 13 - Formação do complexo Flavonoide- AlCl_3 .



Fonte: (MARKHAM, 1982).

2.9.4 Absorbância máxima

A avaliação da absorbância máxima é um método simples e eficaz, que consiste em diluir a amostra e realizar a sua leitura em aparelho espectrofotométrico em uma determinada faixa de comprimento de onda. Isso é importante na determinação do efeito fotoprotetor de uma determinada substância ou amostra, pois ao fazer a varredura de sua absorbância é possível classificá-la em qual tipo de filtro se encaixa, uma vez que, para um produto fotoprotetor ser considerado eficaz, ele deve no mínimo, possuir uma absorbância na faixa do UVB (290-320), e ideal quando possuir um amplo espectro de absorbância que compreenda a faixa de UVB até UVA (290-400 nm) (MELLO; RIBEIRO, 2015). Além disso, os valores obtidos na absorbância máxima são utilizados para determinar o FPS, de acordo com o método desenvolvido espectrofotométrico (MANSUR et al., 1986).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar a atividade antioxidante *in vitro* do Extrato Etanólico Bruto de três espécies da família Annonaceae: *Anaxagorea dolichocarpa*, *Fusaea longifolia* e *Xylopi langsdorffiana*, e suas respectivas capacidade fotoprotetora.

3.2 Específicos

- Avaliar a atividade antioxidante *in vitro* do extrato etanólico bruto de *Anaxagorea dolichocarpa*, *Fusaea longifolia* e *Xylopi langsdorffiana* através do método utilizando o radical 2,2-difenil-1-picril hidrazil (DPPH).
- Determinar o teor de compostos fenólicos no extrato de *Anaxagorea dolichocarpa*, *Fusaea longifolia* e *Xylopi langsdorffiana*.
- Determinar o teor de flavonoides totais no extrato de *Anaxagorea dolichocarpa*, *Fusaea longifolia* e *Xylopi langsdorffiana*.
- Determinar absorbância máxima do extrato de *Anaxagorea dolichocarpa*, *Fusaea longifolia* e *Xylopi langsdorffiana*, utilizando um espectrofotômetro UV.
- Determinar o fator de proteção solar (FPS) *in vitro* do extrato de *Anaxagorea dolichocarpa*, *Fusaea longifolia* e *Xylopi langsdorffiana*, pelo método de Mansur.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Coleta e identificação do material vegetal

4.1.1 Coleta e identificação das raízes de *Anaxagorea dolichocarpa*

As raízes da espécie *Anaxagorea dolichocarpa* foram coletadas em dezembro/2010 no município de Cruz do Espírito Santo, estado da Paraíba. A identificação botânica do material vegetal foi realizada pela Prof.^a. Dr.^a. Maria de Fátima Agra, do Centro de Biotecnologia (CBiotec) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Uma exsicata desta espécie encontra-se depositada no Herbário Prof. Lauro Pires Xavier (JPB), no Centro de Ciências Exatas e da Natureza (CCEN / UFPB) sob o código AGRA 5543.

4.1.2 Coleta e identificação do caule de *Fusaea longifolia*

O material botânico (caule) foi coletado em agosto/2012 na reserva Mocambo em Belém, no estado do Pará. Foi identificado por Jorge Oliveira, do Museu Paraense Emilio Goeldi. Uma exsicata encontra-se depositada no Herbário (MPEG) em Belém, Pará, Brasil sob nº 165435.

4.1.3 Coleta e identificação das Folhas de *Xylopia langsdorffiana*

As folhas de *Xylopia langsdorffiana* foram coletadas dezembro/2010 no município de Cruz do Espírito Santo-PB. O material botânico foi identificado pela Prof.^a. Dr.^a. Maria de Fátima Agra, do Centro de Biotecnologia (CBiotec) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Uma exsicata desta espécie encontra-se depositada no Herbário Prof. Lauro Pires Xavier (JPB), sob o código AGRA 5541.

4.2 Processamento do material vegetal

4.2.1 Processamento das raízes de *Anaxagorea dolichocarpa*

As raízes de *Anaxagorea dolichocarpa* foram secas em estufa com ar circulante à temperatura média de 45 °C durante quatro dias. Após a secagem, o material vegetal foi submetido a um processo de pulverização em moinho mecânico, obtendo-se 1997 g de pó.

4.2.2 Processamento do caule de *Fusaea longifolia*

O caule foi seco em estufa com ar circulante à temperatura de 40 °C durante 3 dias. Após secagem, foi pulverizado em moinho mecânico obtendo-se 1800 g de pó.

4.2.3 Processamento das folhas de *Xylopia langsdorffiana*

As folhas foram dessecadas em estufa de ar circulante a temperatura de 40 °C por 72 horas e em seguida, foi triturado em moinho mecânico, obtendo-se 3600 g de pó.

4.3 Obtenção do extrato etanólico bruto (EEB)

4.3.1 Obtenção do extrato etanólico bruto de *Anaxagorea dolichocarpa*

O material vegetal seco e pulverizado (1997 g) foi submetido à maceração com etanol (EtOH) a 95% em um recipiente de aço inoxidável, durante 72 horas. Este processo foi repetido por três vezes, obtendo-se uma solução extrativa contendo os constituintes químicos da planta. A solução extrativa foi concentrada em rotaevaporador sob pressão reduzida, a uma temperatura média de 45 °C, sendo obtidos 77,5 g do extrato etanólico bruto (EEB).

4.3.2 Obtenção do extrato etanólico bruto de *Fusaea longifolia*

O material foi submetido à maceração com etanol a 95% durante 72 horas, sendo esse processo repetido três vezes. A solução extrativa foi concentrada em rotaevaporador sob pressão reduzida a uma temperatura de 45 °C, obtendo-se 200 g do extrato etanólico bruto.

4.3.3 Obtenção do extrato etanólico bruto de *Xylopia langsdoeffiana*

O material vegetal seco e pulverizado foi submetido à maceração exaustiva com etanol (EtOH) a 95% durante 72 horas, sendo repetido três vezes. A solução extrativa, a qual foi filtrada e concentrada em um rotaevaporador sob pressão reduzida, forneceu 280 g do extrato etanólico bruto.

4.4 Atividade antioxidante *in vitro*: Método de sequestro de radicais (DPPH)

Para realizar o teste da atividade antioxidante, foi utilizada a metodologia descrita por Garcez et al. (2009) com algumas adaptações. 100 µL da solução de DPPH (0,3mM) foram adicionados a 100 µL de diferentes concentrações para cada

extrato a fim de determinar a CE_{50} de cada um (OBS: por cada extrato possuir características intrínsecas, as concentrações variaram a fim de atingir o mínimo para obter sua CE_{50} , e assim, possibilitar a construção da curva de calibração para obter a equação da reta), e a concentração do padrão ácido ascórbico foi de 2,5; 5,0; 10; 15; e 20 $\mu\text{g/mL}$. Após adicionar cada concentração, a mistura entre DPPH e amostra foi mantida em repouso no escuro por trinta minutos e em seguida teve sua absorbância medida em espectrofotômetro UV-Visível (PowerWave HT, BioTek) sob comprimento de onda em 517 nm. Para calcular a % Atividade sequestradora (%AS) utilizou-se a seguinte equação:

Equação 1 – Fórmula para o cálculo da Atividade sequestradora de radicais.

$$(\%AS) = \frac{A_{\text{controle negativo}} - (A_{\text{amostra}} - A_{\text{branco}})}{A_{\text{controle negativo}}} \times 100$$

Onde,

$A_{\text{Controle negativo}}$ = absorbância do DPPH em solução metanólica.

A_{Amostra} = absorbância da amostra ou do padrão ácido ascórbico em DPPH

A atividade antioxidante das amostras foi expressa como CE_{50} , que é a concentração efetiva (em $\mu\text{g/mL}$) da amostra capaz de reduzir 50% dos radicais DPPH. Como Padrão foi utilizado o ácido ascórbico e os extratos foram considerados ativos quando apresentaram $CE_{50} < 500 \mu\text{g/mL}$ (CAMPOS et al., 2003). As análises foram realizadas em triplicatas (repetidas por três dias).

4.5 Determinação de fenóis totais

Para fazer o doseamento de fenóis totais, utilizou-se o método de Folin-Ciocalteu, com adaptações (CABRAL et al., 2009) Para a sua realização foi usado o ácido gálico para construir uma curva de calibração e assim determinar a quantidade de fenóis. O método de Folin consiste em adicionar 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu (10%) a 120 μL da amostra na concentração de 1 mg/mL , após isso, manter a reação em repouso por 8 minutos, sendo adicionado em seguida 400 μL de carbonato de sódio (7,5%) para neutralizar a mistura, em seguida manter as amostras a temperatura ambiente e no escuro por 120 minutos, e transferi-las para placa de 96 poços (200 microlitros/poço) e a absorbância foi medida a 765 nm em

espectrofotômetro UV- visível (PowerWave HT, BioTek). As análises foram realizadas em triplicatas (repetidas por três dias).

No teor de fenólicos totais as amostras analisadas devem ser contempladas pelo intervalo de concentração usado para obter a curva de calibração, que foi de 10; 20; 200; 250 e 300 $\mu\text{g/mL}$, e a partir dela, interpolar as absorbâncias das amostras para obter a quantidade de fenólicos totais sendo expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico por grama de amostra (mg EAG / g de amostra), sendo as análises realizadas em triplicatas (repetidas por três dias).

4.6 Determinação de flavonoides totais

O teor de flavonoides foi determinado pelo método espectrofotométrico proposto por Schmidt e Ortega (1983), com adaptações, utilizando cloreto de alumínio (AlCl_3). Para realização desse teste, 0,1 mL das amostras (1 mg / mL) foram tratadas com 0,1 mL da solução de cloreto de alumínio (2,5%) em placas de 96 poços, sendo a reação mantida ao abrigo da luz por 30 minutos e, em seguida, a absorbância medida a 410 nm em espectrômetro UV-Visível (PowerWave HT, BioTek) (MARQUES et al., 2012). As análises foram realizadas em triplicatas (repetidas por três dias), e as amostras analisadas devem ser contempladas pelo intervalo de concentração usado para obter a curva de calibração com o padrão quercetina, que foi de 10; 20; 100; 150 e 250 $\mu\text{g/mL}$, e a partir dela, interpolar as absorbâncias das amostras para obter a quantidade de flavonoides totais, sendo expressos em miligramas de quercetina por grama de amostra.

4.7 Determinação da absorbância máxima

Para determinação da absorbância máxima (λ_{max}), os extratos foram solubilizados em álcool etílico absoluto PA, e as amostras foram preparadas nas concentrações de 50, 100 e 150 $\mu\text{g/mL}$ p/v de acordo com metodologia desenvolvida em nosso grupo de pesquisa. Em seguida, foi feita uma varredura entre os comprimentos de onda de 200 a 400 nm (Espectrofotômetro UV visível, UV-2550 Shimadzu, em cubeta de quartzo de 1 cm de caminho óptico), para verificar a absorção nas regiões ultravioleta A, B e C (UVA, UVB e

UVC). Como branco foi utilizado o álcool etílico absoluto PA.

4.8 Determinação *in vitro* do fator de proteção solar (FPS)

O FPS foi calculado através do método espectrofotométrico desenvolvido por Mansur et al. (1986), sendo possível calcular o FPS através da equação a seguir:

Equação 2 – Fórmula do fator de proteção solar *in vitro*.

$$FPS \text{ espectrofotométrico} = FC. \sum_{290}^{320} EE(\lambda). I(\lambda). Abs(\lambda)$$

FC = 10

EE (λ) = efeito eritematogênico da radiação

I (λ) = intensidade da luz solar

Abs (λ) = absorbância da amostra

Os valores do efeito eritematogênico e intensidade do sol, ou seja EE . I, são tabelados e estão no quadro 1.

Quadro 1 - Ponderação empregada no cálculo por espectrofotometria.

Comprimento de onda (nm)	EE x i (normalizado) Valores relativos
290	0,015
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180
Total	1,000

(SAYRE et al, 1979)

4.9 Análise estatística

Para o tratamento dos dados foi utilizado o teste de análise de variância (ANOVA) seguido do pós-teste de Tukey, onde os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando nível de significância foi menor que 5% ($p < 0,05$). O software utilizado para análise dos dados foi o GraphPad Prism 6.0.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Atividade antioxidante

Os dados obtidos foram expressos como média da $CE_{50} \pm D.P$ das amostras analisadas pelo método de sequestro do radical DPPH e estão descritos na tabela 1 e gráfico 1. Onde, em cada extrato foram utilizadas as seguintes concentrações: *Anaxagorea dolichocarpa*: 300; 350; 500; 650 e 750 $\mu\text{g/mL}$. *Fusaea longifolia* utilizou-se: 10; 15; 20; 30 e 35 $\mu\text{g/mL}$. *Xylopia langsdorffiana*: 250; 300; 400; 550 600 $\mu\text{g/mL}$ e o padrão ácido ascórbico foi de 2,5; 5,0; 10; 15; e 20 $\mu\text{g/mL}$ e a partir dessas concentrações, determinou-se a CE_{50} .

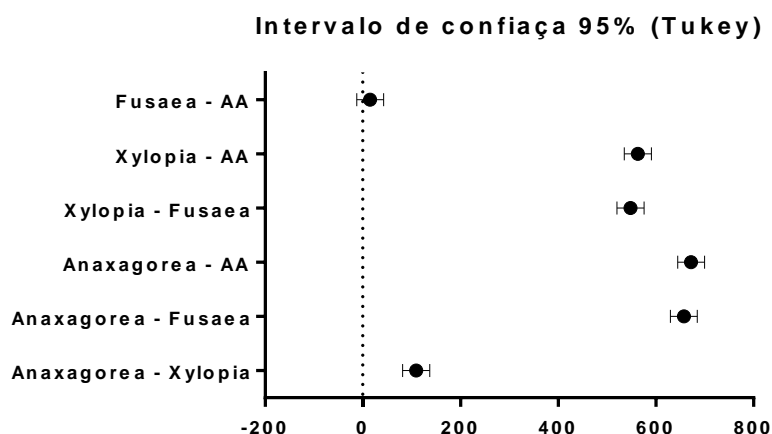
Tabela 1 - $CE_{50} \pm D.P$ $\mu\text{g/mL}$ e coeficiente de variação (CV) das amostras e do padrão a partir do teste do DPPH.

Amostras	$CE_{50} \pm D.P$ ($\mu\text{g/mL}$)	CV
Ácido Ascórbico	11,91 \pm 0,23	1,90 %
<i>F. longifolia</i>	26,84 \pm 0,36	1,35 %
<i>A. dolichocarpa</i>	684,10 \pm 20,16	2,95 %
<i>X. langsdorffiana</i>	575,01 \pm 6,50	1,13 %

A partir dos resultados obtidos, pode-se observar que o desvio padrão (D.P) por apresentar valores com uma variação pequena e um coeficiente de variação menor que 5%, mostrou que o método utilizado foi preciso e eficaz. E, após análise dos valores obtidos no teste de DPPH, foi possível constatar que o extrato de *F. longifolia* demonstrou ter a melhor atividade antioxidante em comparação com as três espécies analisadas, possuindo uma CE_{50} de 26,84 $\mu\text{g/mL}$ sendo esse valor considerado bom na concentração que foi utilizada, pois quando comparado com o padrão ácido ascórbico (AA) (CE_{50} 11,91 \pm 0,23) não se observou diferença

estatisticamente significativa (gráfico 1), sugerindo que o EEB dessa espécie provavelmente seja rico em compostos com efeito antioxidante, o que pode ser útil quando se pensa no desenvolvimento de novos produtos em alternativa aos antioxidantes sintéticos, pois já foi relatado que alguns destes podem causar efeitos tóxicos, como danos no fígado e efeitos mutagênicos (GRICE, 1986; GUIMARÃES et al., 2010; SANTOS et al., 2016).

Gráfico 1 – Análise das CE_{50} de cada amostra e do padrão ácido ascórbico (AA) com o teste ANOVA e pós-teste de Tukey.



Se um intervalo não contiver o zero, as médias correspondentes serão significativamente diferentes. Teste de Tukey ($p < 0,05$)*.

Os resultados para os extratos de *A. dolichocarpa* (CE_{50} 684,10 $\mu\text{g/mL}$) e *X. langsdorffiana* (CE_{50} 575,01 $\mu\text{g/mL}$) mostraram-se com uma diferença estatisticamente significativa (gráfico 1) quando comparados entre si, e com o padrão ácido ascórbico e *F. longifolia*, todos com $p < 0,0001$ além de terem uma atividade antioxidante menor (tabela 1) em comparação a esses dois últimos. Além disso, *A. dolichocarpa* e *X. langsdorffiana* não atingiram a CE_{50} mínima para serem considerados ativos. Segundo Campos et al. (2003) é necessário que o extrato apresente $CE_{50} < 500 \mu\text{g/mL}$, caso contrário, não possui atividade antioxidante significativa. Esses dados sugerem que a quantidade de compostos fenólicos presentes nesses dois extratos existe em baixa quantidade e no extrato de *F. longifolia* em quantidades significantes. Isso demonstra que apesar de serem plantas da mesma família, a variação nos constituintes químicos de cada espécie se fez presente.

5.2 Determinação do teor de fenólicos totais

A determinação do teor de compostos fenólicos das amostras, foram feitas utilizando o método de Folin-Ciocalteu, para tanto, é necessário realizar uma curva de calibração (gráfico 2) com o padrão ácido gálico a fim de interpolar os valores de absorbância das amostras a partir da equação de regressão linear gerada pela curva de calibração, possibilitando calcular o teor de fenóis totais em mg EAG (equivalente de ácido gálico) /g de amostra. Para gerar a curva utilizaram-se as concentrações de 10; 20; 200; 250 e 300 µg/mL. A equação obtida foi: $y = 0,0062x + 0,0382$, onde y é a absorbância, e x a concentração da amostra. O coeficiente de regressão (R^2) obtido foi de 0,9993, mostrando que o método é linear. Os resultados deste teste correspondem à média de três repetições ($n=3$) \pm o desvio padrão da média, e os dados obtidos estão descritos na tabela 2.

Gráfico 2 – Curva de calibração da quantificação de fenóis totais com o ácido gálico como substância padrão. Absorbância 765 nm.

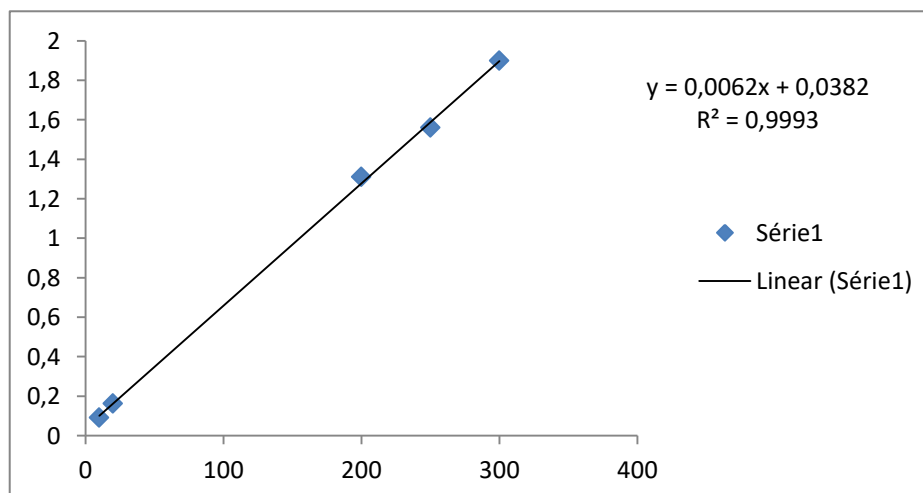


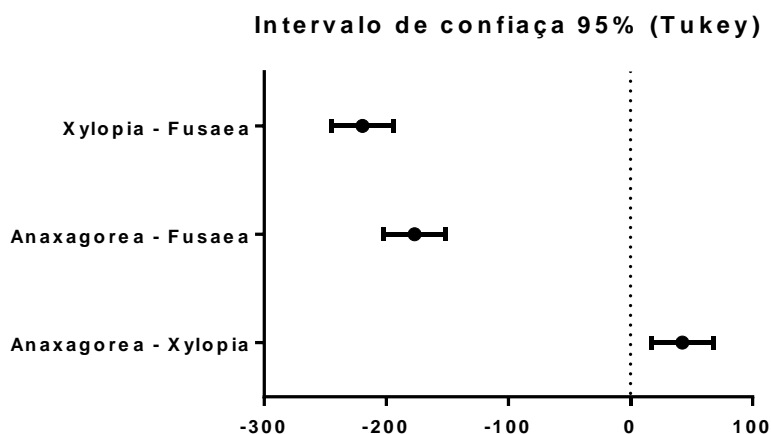
Tabela 2 - Média do teor de fenólicos totais em mg EAG/g de amostra \pm D.P e coeficiente de variação (CV) ($n=3$) de cada EEB, na concentração de 1 mg/mL.

Amostras	Teor de Fenóis Totais (mg EAG/g amostra)	CV
<i>F. longifolia</i>	267,71 \pm 10,55	3,94 %
<i>A. dolichocarpa</i>	90,96 \pm 14,01	15,41 %
<i>X. langsdorffiana</i>	48,34 \pm 1,64	3,46 %

Nos dados obtidos foi observado que entre as amostras analisadas, o extrato de *F. longifolia* apresentou a maior quantidade de compostos fenólicos (267,71 \pm

10,55 mg EAG/g) apresentando uma diferença estatisticamente significativa (gráfico 3) com $p < 0,0001$ em comparação aos dois outros extratos, *A. dolichocarpa* ($90,96 \pm 14,01$ mg EAG/g) e *X. langsdorffiana* ($48,34 \pm 1,64$ mg EAG/g).

Gráfico 3 - Análise das médias dos fenóis totais de cada amostra com o teste ANOVA e pós-teste de Tukey.



Se um intervalo não contiver o zero, as médias correspondentes serão significativamente diferentes. Teste de Tukey ($p < 0,05$)*.

Esses dados sugerem que os compostos fenólicos estão entre os melhores antioxidantes na natureza (FOTI; AMORATI, 2016), e que são os responsáveis pela boa atividade antioxidante de *F. longifolia*, mostrando uma correlação positiva entre os fenóis totais e sua CE_{50} . Contudo, é interessante ressaltar que é necessária a caracterização da estrutura do composto fenólico para confirmar essa atividade, pois sua ação oxidante está diretamente relacionada com sua estrutura química, podendo ser determinada pela ação da molécula como agente redutor (MAMEDE; PASTORE, 2004; RAMALHO; JORGE, 2006). Diante disto, é importante destacar, que apesar do extrato de *X. langsdorffiana* ter apresentado uma melhor atividade antioxidante com uma CE_{50} menor que *A. dolichocarpa*, a sua quantidade de compostos fenólicos foi estatisticamente menor ($p < 0,01$) em comparação com *A. dolichocarpa* (tabela 2 e gráfico 3), mostrando que apesar de possuir uma menor quantidade de fenóis, estes possuem uma estrutura química que favorece o efeito antioxidativo, sugerindo que a hipótese em que é necessária a caracterização da estrutura química do composto fenólico a fim de verificar sua atividade antioxidante seja verdadeira.

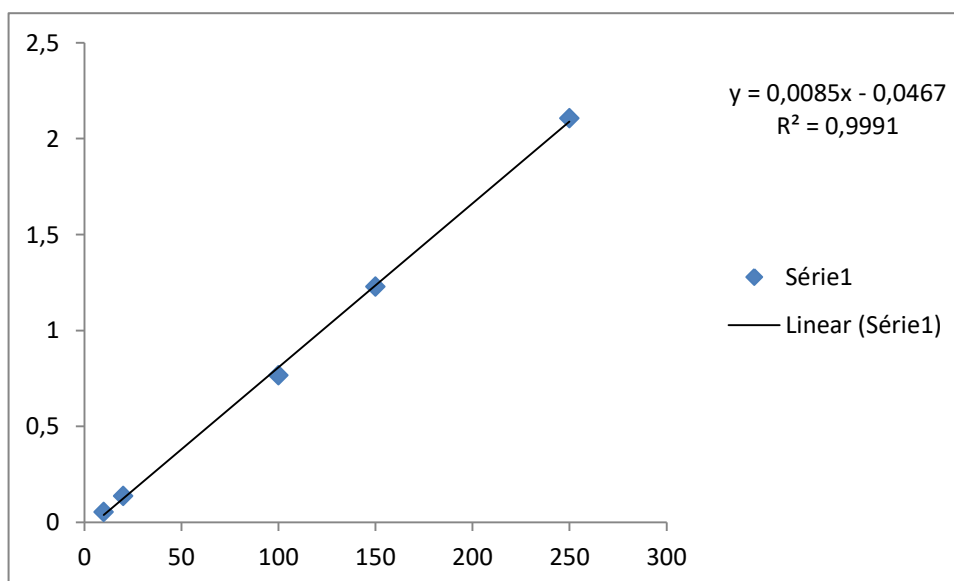
5.3 Determinação do teor de flavonoides totais

A quantificação do teor de flavonoides totais foi feita utilizando o método espectrofotométrico com cloreto de alumínio a 2,5%. A curva de calibração (gráfico 4) para obter a equação de regressão linear foi feita com o padrão quercetina nas concentrações de 10; 20; 100; 150 e 250 µg/mL, dessa forma, possibilitando a interpolação dos dados obtidos para calcular o teor de flavonoides totais de cada EEB em µg querc/mg de amostra. A equação da reta foi: $y = 0,0085x - 0,0467$ e o R^2 foi maior que 0,99. Os resultados deste teste correspondem à média de três repetições ($n=3$) \pm o desvio padrão da média, e os dados obtidos estão descritos na tabela 3.

Tabela 3 - Média do teor de flavonoides totais em mg querc/g de amostra \pm D.P e coeficiente de variação (CV) ($n=3$) de cada EEB, na concentração de 1 mg/mL.

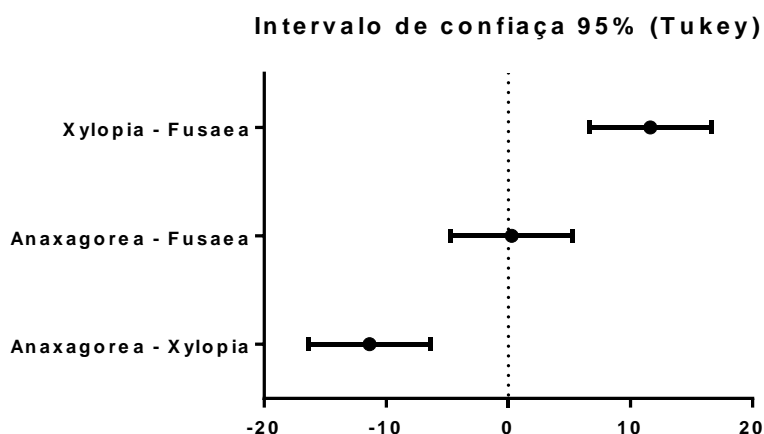
Amostras	Teor de Flavonoides Totais (mg querc/g amostra)	CV
<i>F. longifolia</i>	13,27 \pm 1,84	12,66 %
<i>A. dolichocarpa</i>	13,74 \pm 1,25	9,15 %
<i>X. langsdorffiana</i>	25,10 \pm 2,62	10,47 %

Gráfico 4 – Curva de calibração da quantificação de flavonoides totais com a quercetina como substância padrão. Absorbância 415 nm.



Após análise dos dados obtidos (tabela 3), foi possível constatar que o EEB de *X. langsdorffiana* obteve a maior quantidade de flavonoides com $25,10 \pm 2,62$ mg querc/g de amostra, valor estatisticamente significativo (gráfico 5) com $p < 0,001$ quando comparado com as outras duas plantas, *A. dolichocarpa* ($13,74 \pm 1,25$ mg querc/g) e *F. longifolia* ($13,27 \pm 1,84$ mg querc/g).

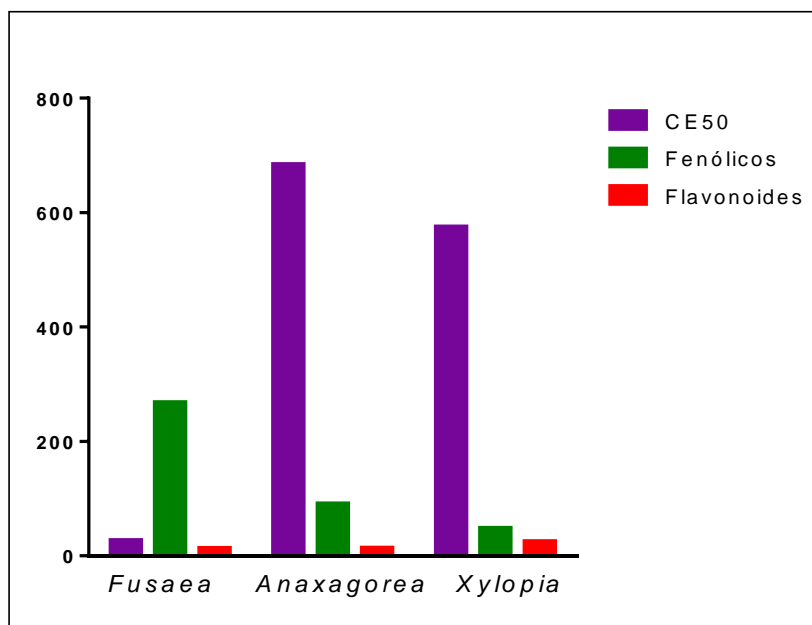
Gráfico 5 – Análise das amostras com o teste ANOVA e pós-teste de Tukey.



Se um intervalo não contiver o zero, as médias correspondentes serão significativamente diferentes. Teste de Tukey ($p < 0,05$)*.

Esses resultados sugerem o porquê de *X. langsdorffiana* ter apresentado uma menor quantidade de compostos fenólicos que *A. dolichocarpa* mas com uma maior atividade antioxidante, isso provavelmente está associado aos flavonoides presentes no seu EEB, o que está promovendo uma melhor CE_{50} ($575,01 \mu\text{g/mL}$) em relação a *A. dolichocarpa* ($684,10 \mu\text{g/mL}$), e também indica que os fenóis (que não sejam flavonoides) presentes nessas duas plantas, não possuem uma estrutura capaz de desenvolver uma boa atividade antioxidante, tendo em vista o alto valor da CE_{50} de ambas as plantas. Tanto é que, apenas o maior valor de flavonoides totais de *X. langsdorffiana* não foi suficiente para superar a atividade antioxidante de *F. longifolia* que apresentou CE_{50} de ($26,84 \mu\text{g/mL}$), mostrando que os fenóis presentes no EEB de *F. longifolia* possuem uma ótima capacidade de sequestro de radicais livres, o que está relacionado a sua boa atividade antioxidante, e estes fenóis não são necessariamente flavonoides (MAMEDE; PASTORE, 2004). Para uma melhor compreensão do que foi discutido até agora, o gráfico a seguir (gráfico 6) mostra a comparação dos testes de atividade antioxidante, fenóis e flavonoides totais do extrato etanólico bruto das três espécies estudadas.

Gráfico 6 - Comparação das 3 amostras entre os testes realizados.

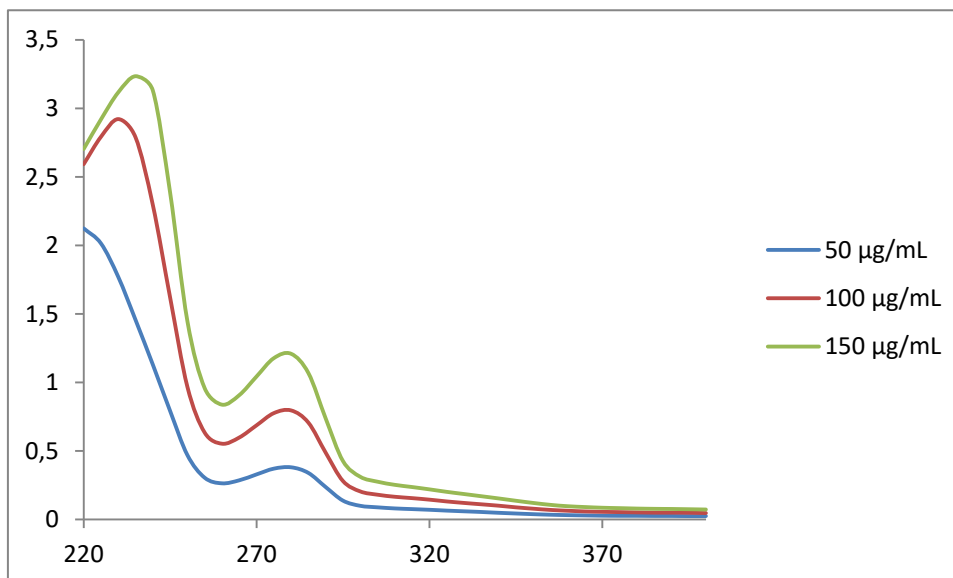


5.4 Absorbância máxima do EEB de *Fusaea longifolia*

Para poder determinar o FPS de qualquer substância é necessário avaliar o grau de absorbância através de uma varredura espectrofotométrica que corresponda à radiação ultravioleta das regiões UVC, UVB e UVA. Como a região do UVB é responsável por causar eritema na pele, um filtro ou substância ativa eficaz é aquela que tenha uma boa absorção nessa região (ARAUJO; SOUZA, 2008).

Os dados obtidos a partir da análise espectrofotométrica do EEB de *Fusaea longifolia* são apresentados no gráfico 7, nas concentrações de 50, 100 e 150 µg/mL. No eixo Y estão os valores da absorbância e o eixo X, os comprimentos de onda em nanômetros (nm).

Gráfico - 7. Espectro da varredura UV do EEB de *Fusaea longifolia* na faixa de 220-400 nm.



A partir da análise do gráfico 7, foi possível observar que o pico de absorção desse extrato encontra-se na região do UVC em 220 nm para a concentração de 50 µg/mL com valor de 2,124. Já quando a concentração foi aumentada para 100 e 150 µg/mL, o pico de absorbância foi registrado em 230 nm, com valor de 2,921 e 3,116 verificando um aumento na absorção, o que já era esperado, pois quanto maior a concentração, maior a quantidade de substâncias presentes (MAILLAN et al., 2005). Foi observado ainda, outro pico no início da região de UVB, que é a mais importante quando se pensa em fotoproteção. Esse pico foi em 280 nm com valor de 0,381, 0,796 e 1,209 para as concentrações de 50, 100 e 150, respectivamente. Contudo esse pico sofreu um declínio rapidamente, não sustentando uma boa absorbância na região do UVB. Diante disso, foi possível perceber que o EEB possui uma ótima absorbância na região de UVC, porém, não possui uma boa absorção na região de UVB que é a responsável por efeitos danosos a pele humana (WIDEL et al., 2014), desta forma não apresentando uma boa atividade fotoprotetora preliminar.

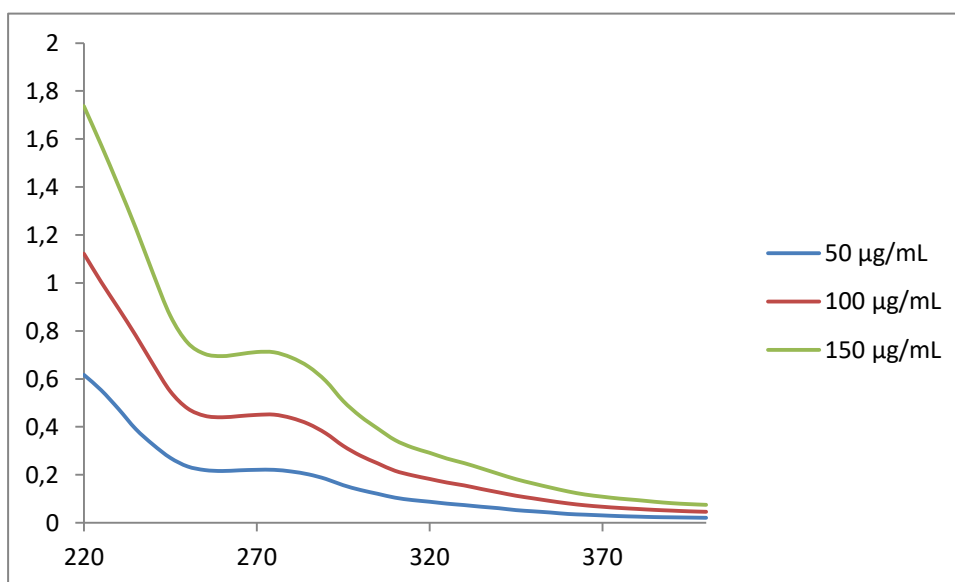
Contudo, é importante destacar que o EEB *Fusaea longifolia* apresentou uma ótima atividade antioxidante nas concentrações utilizadas, a ponto de não ser estatisticamente diferente do padrão ácido ascórbico. Dessa forma, o extrato ainda mostra-se relevante quando se pensa em incorporação a fotoproteção, pois os compostos que possuem atividade antioxidante quando associados à fotoprotetores

podem prevenir o dano inflamatório, oxidativo e em nível de DNA, mitigando o dano causado pela exposição à radiação UV, evitando o aparecimento dos mais variados problemas de pele (NICHOLS; KATIYAR, 2010).

5.5 Absorbância máxima do EEB de *Anaxagorea dolichocarpa*

Os espectros de varredura na região UV do EEB de *Anaxagorea dolichocarpa* estão expressos no gráfico a seguir. Como no teste anterior, foram utilizadas as mesmas concentrações (50, 100 e 150 µg/mL).

Gráfico - 8. Espectro de varredura UV do EEB de *Anaxagorea dolichocarpa* na faixa de 220-400 nm.



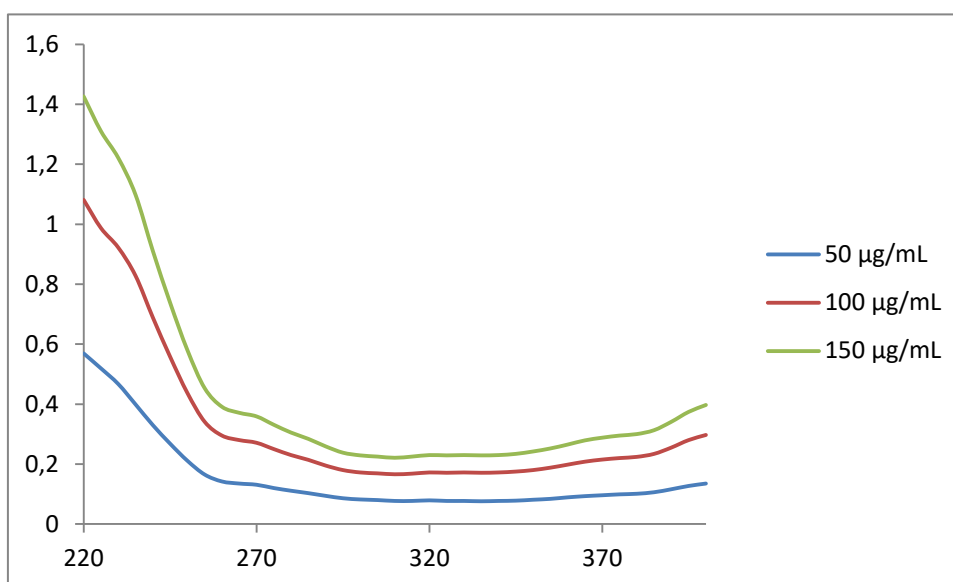
O espectro mostra que o EEB de *Anaxagorea dolichocarpa* possui uma absorção relativamente baixa, com pico máximo na região UVC em 220 nm com o maior valor sendo 1,737 na concentração de 150 µg/mL, e outro pico em 280 nm com valor de 0,689 para a sua maior concentração. Apesar de esse extrato ter apresentado um pico menor em relação ao EEB de *F. longifolia*, ele não apresentou um declínio tão rápido quando em uma parte da região UVB entre 290-300, sugerindo que este possa obter um efeito de fotoproteção melhor que o de *F. longifolia*, pois o cálculo de efeito fotoprotetor é em relação à radiação UVB de 290 a 320 nm que é a causadora de eritemas (FLOR et al., 2007). É importante salientar que apesar desse extrato ter apresentado picos de absorbâncias relativamente baixos, é sugestivo que seja feita uma continuação desse estudo em concentrações

maiores, pois outros estudos na literatura (SILVA et al., 2017; YAMAGUCHI et al., 2016) utilizaram concentrações de até 1 mg/mL, e que se essas concentrações fossem utilizadas para esse extrato, ele poderia obter resultados preliminares satisfatórios.

5.6 Absorbância máxima do EEB de *Xylopi langsdorffiana*

Os espectros de varredura na região UV do EEB de *Xylopi langsdorffiana* estão expressos no gráfico a seguir, nas concentrações de 50, 100 e 150 µg/mL.

Gráfico - 9. Espectro de varredura UV do EEB de *Xylopi langsdorffiana* na faixa de 220-400 nm.



Após análise dos dados e do espectro de varredura na região UV de 220-400 nm, foi possível observar que o EEB de *Xylopi langsdorffiana* apresentou seu maior pico de absorção em 220 nm com valor de 1,426 para a concentração de 150 µg/mL, dessa forma, sendo a amostra que possuiu a menor absorbância em comparação aos extratos de *F. longifolia* e *A. dolichocarpa*. Diante disto, é possível sugerir que esse resultado não é significativo para a utilização do EEB de *X. langsdorffiana* uma vez que a radiação UVB encontra-se em 280-320 nm, e a absorbância encontrada nessa faixa para esse extrato foi muito baixa (0,295 em 290 nm), sendo necessária uma concentração muito alta desse extrato para que houvesse fotoproteção, o que aumentaria o custo do produto final, além da maior

probabilidade de apresentar efeitos alérgicos na pele (RANGEL; CORRÊA, 2002; SOUZA et al., 2005).

Um fato importante, é que esse extrato apresentou um aumento na absorção a partir das bandas em 380 nm, com uma curva crescente, diferentemente do que foi visto nos outros extratos. Isso pode ser explicado pela maior quantidade de flavonoides presentes em *X. langsdorffiana*, pois os flavonoides possuem uma das bandas de absorção máxima em 320-380 nm, e a presença de alguns grupos ligados ao esqueleto podem alterar as absorções tradicionais, como o canferol que absorve em 367 nm e a quercetina que possui uma OH a mais e absorve em 371 nm, outro exemplo que pode ser citado, são as antocianinas que apresentam absorção em 450 nm devido ao sistema hidroxicinamil do anel B (WOLLENWEBER & DIETZ, 1981).

5.7 Fator de proteção solar

A determinação do fator de proteção solar (FPS) é uma técnica que comprova a eficácia dos filtros solares para a porção UVB do espectro eletromagnético. Pelo fato do UVB causar eritema na pele, um filtro é considerado eficaz quando é capaz de proteger a pele nessa região (ARAUJO; SOUZA, 2008). E para realizar a estimativa do FPS por espectrofotometria é necessário avaliar a altura, largura e localização da curva de absorção no espectro do ultravioleta (MANSUR et al., 1986). Assim, o FPS foi calculado de acordo com metodologia e formula (equação 3) descrita por Mansur et al. (1986), sendo calculado para as 3 concentrações utilizadas (50, 100 e 150 µg/mL), usando os valores de absorção na região de 290-320 nm. Os resultados obtidos foram expressos na tabela 4, e os fatores de proteção solar de cada amostra na tabela 5.

Equação 3 - Formula do fator de proteção solar *in vitro*

$$FPS \text{ espectrofotométrico} = FC. \sum_{290}^{320} EE(\lambda).I(\lambda).Abs(\lambda)$$

Tabela 4 - Absorbâncias dos extratos de cada planta na região 290-320 nm, com suas respectivas concentrações.

Comprimento de onda (nm)	50 (µg /mL)	100 (µg /mL)	150 (µg /mL)
<i>F. longifolia</i>			
290	0,237	0,488	0,738
295	0,138	0,281	0,427
300	0,100	0,205	0,312
305	0,089	0,181	0,276
310	0,081	0,166	0,253
315	0,076	0,156	0,237
320	0,071	0,145	0,220
<i>A. dolichocarpa</i>			
290	0,183	0,377	0,591
295	0,157	0,321	0,508
300	0,137	0,280	0,444
305	0,121	0,248	0,393
310	0,105	0,217	0,345
315	0,095	0,198	0,314
320	0,088	0,183	0,292
<i>X. langsdorffiana</i>			
290	0,094	0,195	0,259
295	0,086	0,180	0,238
300	0,082	0,172	0,229
305	0,080	0,169	0,225
310	0,077	0,166	0,221
315	0,077	0,168	0,225
320	0,079	0,172	0,230

Tabela 5 - Fator de proteção solar para cada amostra de acordo com as suas concentrações.

Amostras	Concentração (µg /mL)	FPS
<i>F. longifolia</i>	50	0,95
	100	1,95
	150	2,97
<i>A. dolichocarpa</i>	50	1,24
	100	2,56
	150	4,03
<i>X. langsdorffiana</i>	50	0,80
	100	1,71
	150	2,27

Após análise dos dados obtidos na tabela 4 e com a determinação do FPS (tabela 5), foi possível constatar que o extrato que obteve o maior FPS foi o de *A. dolichocarpa*, com FPS de 4,03 na concentração de 150 µg /mL, seguido por *F. longifolia* 2,97 e por último *X. langsdorffiana* com 2,27. Para serem efetivos contra os danos da radiação solar, os filtros solares devem ter uma ampla faixa de absorbância entre 290 a 400 nm (MISHRA et al., 2012). Além disso, de acordo com a legislação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), os protetores solares para serem considerados ativos, devem apresentar no mínimo um FPS de 6 em testes preliminares. Como nenhum dos extratos obteve o valor mínimo, pode-se sugerir que estes não possuam potencial de filtro protetor.

Um fato interessante, é que, o EEB de *A. dolichocarpa* apesar de ter apresentado a menor atividade antioxidante, das três espécies, foi a que obteve o melhor efeito fotoprotetor, sugerindo que não existe uma garantia de que um extrato com boa atividade antioxidante vá apresentar um bom efeito de filtro protetor solar. Porém, a associação de uma amostra com boa atividade antioxidante e um elevado nível de compostos fenólicos a um filtro protetor, poderá ampliar a eficácia desse protetor, tendo em vista que os compostos fenólicos podem reduzir a penetração da radiação UVB nas células, atuando como um complemento aos protetores solares tópicos (GILABERTE; GONZÁLEZ 2010). Dessa forma, apesar de não ter atingindo o FPS mínimo para ser considerado ativo, o EEB de *F. longifolia* apresentou uma boa quantidade de compostos fenólicos e uma ótima ação fotoprotetora em nível de antioxidante, portanto, é interessante que se realize um estudo no intuito de verificar se a sua associação com um protetor solar poderá ampliar a eficácia desse protetor.

6 CONCLUSÕES

Após análise de todos os resultados obtidos, foi possível concluir que o EEB de *Fusaea longifolia*, na concentração utilizada possui a melhor atividade antioxidante das três espécies estudadas com o menor valor de CE_{50} , não apresentando diferença estatística quando comparada com o padrão ácido ascórbico. Em seguida vem o EEB de *Xylopia langsdorffiana*, e por último *Anaxagorea dolichocarpa*, onde ambos os extratos apresentaram diferença estatística entre si e quando comparados com o padrão e o extrato de *F. longifolia*. Além de não terem atingido a CE_{50} mínima para serem considerados ativos.

No teste para a quantificação do teor de compostos fenólicos, o EEB de *F. longifolia* foi o que apresentou a maior quantidade desses compostos, justificando a sua boa atividade antioxidante, seguido por *A. dolichocarpa* e por último *X. langsdorffiana*. Apesar de possuir uma menor quantidade de compostos fenólicos, foi visto que *X. langsdorffiana* apresentou uma melhor atividade antioxidante em comparação com *A. dolichocarpa*, dessa forma, sugerindo que os compostos fenólicos em *X. langsdorffiana* possuem em sua estrutura química, grupos que permitem uma maior interação com radicais livres, do que os fenólicos de *A. dolichocarpa*.

Na quantificação de flavonoides totais, o EEB de *X. langsdorffiana* foi o que apresentou o maior teor desses compostos, seguido por *A. dolichocarpa* e *F. longifolia* com valores estatisticamente iguais.

No teste de absorbância máxima, o EEB de *F. longifolia* apresentou os melhores resultados das três espécies na região de UVC de 220 a 280 nm, seguido por *A. dolichocarpa* e *X. langsdorffiana*. Nenhum dos extratos apresentou valor significativo na região do UVB e UVA.

Na avaliação do fator de proteção solar *in vitro*, o EEB de *A. dolichocarpa* apresentou o melhor FPS das três espécies, seguido por *F. longifolia* e *X. langsdorffiana*. Nas concentrações testadas (50, 100 e 150 $\mu\text{g/mL}$), nenhum dos extratos obteve o FPS mínimo (FPS 6) exigido pela ANVISA para que seja considerado ativo. Entretanto, o extrato de *F. longifolia* por apresentar uma grande quantidade de compostos fenólicos, com uma boa atividade antioxidante, é sugestivo que se realize novos estudos para a possível incorporação desse extrato a

uma formulação com um filtro solar, tendo em vista que os antioxidantes podem atuar como um complemento aos protetores solares.

7 REFERÊNCIAS

ALLEMANN, B.; BAUMMANN, L. Antioxidants used in skin care formulations. **Skin Therapy Letter**, v.13, n. 7, p. 5-9, 2008.

ALMEIDA, J.R.G.S.; JUNIOR, R.G.O. Prospecção tecnológica de fotoprotetores derivados de produtos naturais. **Revista GEINTEC-Gestão, Inovação e Tecnologias**, v. 3, n. 1, p. 32-40, 2013.

ALU'DATT, M.H.; RABABAH, T.; AHAMAD, M.N.; AL-MAHASNEH, M.A.; ALMAJWAL, A.; GAMMOH, S.; EREIFEJ, K.; JOHARGY, A.; ALLI, I. A review of phenolic compounds in oil-bearing plants: Distribution, identification and occurrence of phenolic compounds. **Food Chemistry**, v. 218, p. 99-106, 2017.

ANDRADE, E.H.A.; OLIVEIRA, J.; ZOGHBI, M.D.G. B. Volatiles of *Anaxagorea dolichocarpa* Spreng. & Sandw. and *Annona densicoma* Mart. growing Wild in the state of Pará, Brazil. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 22, n. 2, p. 158-160, 2007.

ANDRADE, N.C.; BARBOSA-FILHO, J.M.; AGRA, M.F.; DA CUNHA, E.V.L.; SILVA, M.S. Terpenoids of the Annonaceae: Distribution and compilation of 13 C NMR data. **Recent Research Developments in Phytochemistry**, v. 7, p. 1-85, 2003.

ANDRÉ, C.; CASTANHEIRA, I.; CRUZ, J.M.; PASEIRO, P.; SANCHES-SILVA, A. Analytical strategies to evaluate antioxidants in food: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v.21, p.229-246, 2010.

ANGELO, P.M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.

ARAÚJO, T.S.; SOUZA, S.O. Protetores solares e os efeitos da radiação ultravioleta. **Scientia plena**, v. 4, n. 11, 2008.

BAKER, L.A.; MARCHETTI, B.; KARSILI, T.N.V.; STAVROS, V.G.; ASHFOLD, M.N.R.; Photoprotection: extending lessons learned from studying natural sunscreens to the design of artificial sunscreen constituents. **Chemical Society Reviews**, v. 46, p. 3770-3791, 2017.

BALOGH, T.S.; VELASCO, M.V.R.; PEDRIALI, C.A.; KANEKO, T.M.; BABY, A.R. Proteção à radiação ultravioleta: recursos disponíveis na atualidade em fotoproteção. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 4, p. 732-42, 2011.

BARON, E.D.; KIRKLAND, E.B.; DOMINGO, D.S. Advances in photoprotection. **Dermatology Nursing**, v. 20, p. 265-72, 2008.

BARREIRO, E.J.; BOLZANI, V.D.S. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 679-688, 2009.

BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P.; Estresse oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BONI, A.; PUGLIESE, C.; CLÁUDIO, C.C.; PATIN, R.V.; OLIVEIRA, F.L.C. Vitaminas antioxidantes e prevenção da arteriosclerose na infância. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 28, n. 4, p. 373-380, 2010.

BRAZ-FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 229-239, 2010.

BRAZ-FILHO, R.; GABRIEL, S.J.; GOMES, C.M.R.; GOTTLIEB, O.R.; BICHARA, M.D.G.A.; MAIA, J.G.S. Oxoaporphine Alkaloids from *Fusaea longifolia* and *Siparuna guianensis*. **Phytochemistry**, v. 15, p. 1187-1188, 1976.

BUDDEN, T.; BOWDEN, N.A. The role of altered nucleotide excision repair and UVB-induced DNA damage in melanomagenesis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n.1, p. 1132-1151, 2013.

CALZAVARA, P.P.; SALA, R.; ARISI, M.C.; BUSSOLETTI, C.; CELLENO, L. Photobiology, photodermatology and sunscreens: a comprehensive overview. Part 1: damage from acute and chronic solar exposure. **Giornale Italiano Di Dermatologia e Venereologia**, v. 148, n. 1, p. 89-106, 2013.

CARNEIRO, F.; SILVA, M.D.A. Tendências dos estudos com plantas medicinais no Brasil. **Revista Sapiência: sociedade, saberes e práticas educacionais**, v. 3, n. 2, p. 44-75, 2015.

CASTELLO-BRANCO, M.V.; ANAZETTI, M.C.; SILVA, M.S.; TAVARES, J.F.; DINIZ, M.F.; FRUNGILLO, L.; HAUN, M.; MELO, P.S. Diterpenes from *Xylopia langsdorffiana* inhibit cell growth and induce differentiation in human leukemia cells. **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 64, p.650 – 656, 2009.

CHATROU, L.W.; HE, P. Studies in Annonaceae XXXIII. A revision of *Fusaea longifolia* (Baill) Saff. **Brittonia**, v. 51, p. 181-203, 1999.

CHATROU, L.W.; PIRIE, M. D.; ERKENS, R.H.J.; COUVREUR, T.L.P.; NEUBIG, K. M.J.; ABBOTT, R.; MOLS, J.B.; MAAS, J.W.; SAUNDERS, R.M.K.; CHASE, M.W.A new subfamilial and tribal classification of the pantropical flowering plant family Annonaceae informed by molecular phylogenetics. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 169, n. 1, p. 5-40, 2012.

CHEN, L.; HU, J.Y.; WANG, S.Q. The role of antioxidants in photoprotection: a critical review. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 67, n. 5, p. 1013-1024, 2012.

CHO, S.; SHIN, M.H.; KIM, Y.K.; SEO, J.E.; LEE, Y.M.; PARK, C.H.; CHUNG, J.H. Effects of infrared radiation and heat on human skin aging in vivo. **Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings**, v. 14, p. 15-9, 2009.

COLMAN, S.T.; MONTILLA, L.; RODRIGUEZ, M.; CASTILLO, A.; HASEGAWA, M. Xymarginatin: a new acetogenin inhibitor of mitochondrial electron transport from *Xylopia emarginata* Mart., Annonaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 4, p. 871-875, 2009.

CORRÊA, M. A. Cosmetologia, Ciência e Técnica. **Medfarma**, São Paulo, 1ª ed, 2012.

CORREA, M. P. **Dicionário das Plantas úteis do Brasil**, p. 315, 1984.

COSTA, E.V.; PINHEIRO, M.L.B.; SILVA, J.R.D.A.; MAIA, B.H.L.N.S.; DUARTE, M.C.T.; AMARAL, A.C.F.; MACHADO, G.M.C.; LEON, L.L. Antimicrobial and antileishmanial activity of essential oil from the leaves of *Annona foetida* (Annonaceae). **Química Nova**, v. 32, n. 1, p. 78–81, 2009.

COUVREUR, T.L.P.; MAAS, P.J.M.; MEINKE, S.; JOHNSON, D.M.; KESSLER, P.J.A. Keys to the genera of Annonaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 169, n. 1, p.74-83, 2012.

CRIADO, P.R.; MELO, J.N.; OLIVEIRA, Z.N.P. Fotoproteção tópica na infância e na adolescência. **Journal of Pediatrics**, v.88, n. 3, p. 20310, 2012.

CROZIER, A.; JAGANATH, I.B.; CLIFFORD, M.N. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. **Natural Product Reports**, v. 26, p. 1001-1043, 2009.

OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; TREVISAN, M. T. S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

VELASCO-DE-PAOLA, M. V. R. Princípios de formulação de protetores solares. **Cosmetics and Toiletries** (Ed. Port.), v. 13, p. 74, 2001.

DIAS, M.C. **Estudos taxonômicos do gênero *Xylopia* L. (Annonaceae) no Brasil extra-amazônico**. Campinas, 1988. 183 p. Dissertação de Mestrado - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas.

DOYLE, J.A.; LE THOMAS, A. Phylogenetic analysis and character evolution in Annonaceae. **Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle, Section B**, v. 18, p. 279-334, 1996.

EL GHARRAS, H. Polyphenols: food sources, properties and applications – a review. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v.44, n.12, p. 2512-2518, 2009.

ESKIN, N.A.M; PRZYBYSLKI, R. Antioxidants and shelf life of foods. In:

ROBINSON, D. S.; ESKIN N.A.M. (Ed.). **Food shelf life stability**: chemical, biochemical and microbiological changes, Boca Raton: CRC Press, 2001. Chap. 6, p. 175-209.

FERDINANDO, M.D.; BRUNETTIA, C.; AGATIB, G.; TATTINIC, M. Multiple functions of polyphenols in plants inhabiting unfavorable Mediterranean areas. **Environmental and Experimental Botany**, v. 103, p. 107–116, 2014.

FERNANDES, A.J.D.; FERREIRA, M.R.A.; RANDAU, K.P.; SOUZA, T.P.; SOARES, L.A.L. Total flavonoids content in the raw material and aqueous extractives from *Bauhinia monandra* Kurz (Caesalpinaceae). **The Scientific World Journal**, p. 1-7, 2012.

FLOR, J.; DAVOLOS, M.R.; CORRÊA, M.A. Protetores solares. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 153-158, 2007.

FOTI, M.C.; AMORATI, R. ROS and phenolic compounds. **Reactive Oxygen Species in Biology and Human Health**. CRC Press, Boca Raton, p. 49-53, 2016.

FREITAS, J.V.; PRAÇA, F.S.G.; BENTLEY, M.V.B.L.L.R.; GASPAR, L.R. Trans-resveratrol and beta-carotene from sunscreens penetrate viable skin layers and reduce cutaneous penetration of UV-filters. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 484, p. 131-137, 2015.

GILABERTE, Y.; GONZÁLEZ, S. Update on photoprotection. **Actas Dermo-Sifiliográficas**, v. 101, p. 659-672, 2010.

GONZÁLEZ, S.; FERNÁNDEZ-LORENTE, M.; GILABERTE-CALZADA, Y. The latest on skin photoprotection. **Clinics in Dermatology**, v. 26, p. 614, 2008.

GREEN, A.C.; WILLIAMS, G.M.; LOGAN, V.; STRUTTON, G.M. Reduced melanoma after regular sunscreen use: randomized trial follow-up. **Journal of Clinical Oncology**, v. 29, n. 3, p. 257-263, 2011.

GRICE, H.C. Safety evaluation of butylated hydroxytoluene (BHT) in the liver, lung and gastrointestinal tract. **Food and Chemical Toxicology**, v. 24, p. 1127–1130, 1986.

GUIMARÃES, R.; SOUSA, M.J.; FERREIRA, I.C.F.R. Contribution of essential oils and phenolics to the antioxidant properties of aromatic plants. **Industrial Crops and Products**, v. 32, n. 2, p. 152-156, 2010.

HALLIWELL, B. Oxidants and human disease: some new concepts. **FASEB Journal**, v. 1 n. 5, p. 358–364, 1987.

HALLIWELL, B.; AESCHBACH, R.; LÖLIGER, J.; ARUOMA, O.I. The characterization of antioxidants. **Food and Chemical Toxicology**, v. 33, n. 7, p. 601-617, 1995.

HARRIGAN, G.G.; GUNATILAKA, A.A.L.; KINGSTON, D.G.I.; CHAN, G.W.; JOHNSON, R.K. Isolation of bioactive and other oxoaporphine alkaloids from two annonaceous plants, *Xylopi aethiopica* and *Miliusa cf. banacea*. **Journal Natural Products**, v. 57, p. 68-73, 1994.

HOCQUEMILLER, R; RASAMIZAFY, S.; MORETTI, C.; JACQUEMIN, H.; CAVÉ, A. Anaxagoreine, a new aporphine alkaloid, isolated from two species of the genus *Anaxagorea*. **Planta Medica**, v. 41, n. 1, p. 48-50, 1981.

JANSEN, R.; OSTERWALDER, U.; WANG, S.Q.; BURNETT, M.; LIM, H.W. Photoprotection: part II. Sunscreen: development, efficacy, and controversies. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 69, n. 6, p. 867.e1-867.e14, 2013.

JOHNCOCK, W. Interação de formulações com filtro solar. **Cosmetics and Toiletries**. São Paulo, v. 12, p. 40-50, 2000.

JUNIOR, T.Z.A.; JABLONSKI, J.E.; JACKSON, L.S.; CHANG, C.; EDIRISINGHE, I.; FREEMAN, B.B. Phenolic composition, antioxidant properties, and white cranberry fruits. **Food Chemistry**, v. 157, p.540-552, 2014.

KARIOTI, A.; HADJIPAVLOU-LITINA, D.; MENSAH, M.L.; FLEISCHER, T. C.; SKALTSA, H. Composition and antioxidant activity of the essential oils of *Xylopi aethiopica* (Dun) A. Rich. (Annonaceae) leaves, stem bark, root bark, and fresh and dried fruits, growing in Ghana. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 8094-8, 2004.

KING, A, YOUNG, G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 50, n. 2, p. 213-8, 1999.

KLIMOVÁ, Z.; HOJEROVÁ, J.; BERÁNKOVÁ, M. Skin absorption and human exposure estimation of three widely discussed UV filters in sunscreens e in vitro study mimicking real-life consumer habits. **Food and Chemical Toxicology**, v. 83, p. 237-250, 2015.

KULLAVANIJAYA, P.; LIM, H.W. Photoprotection. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 52, n. 6, p. 937-958, 2005.

LAUTENSCHLAGER, S.; WULF, H. C.; PITTELKOW, M. R. Photoprotection. **Lancet**, v. 37, p. 370-528, 2007.

LAVLE, N.; SHUKLA, P.; PANCHAL, A. Role of flavonoids and saponins in the treatment of diabetes mellitus. **Journal of Pharmaceutical Science and Bioscientific Research**, v. 6, n. 4, p. 535-541, 2016.

LEBOEUF, M.; CAVE, A.; BHAAUMIK, P.K.; MUKHERJEE, B.; MUKHERJEE, R. The Phytochemistry of the Annonaceae. **Phytochemistry**, v.21, p. 2783, 1982.

LIMA, M. D. **Perfil cromatográfico dos extratos brutos das sementes de *Annona muricata* L. e *Annona squamosa* L. através da cromatografia líquida de alta eficiência**. Alagoas, 2007. 102p. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Alagoas.

LOHMANN, S.; SCHILLINGS, C.; MAYER, B.; MEYER, R. Long-term variability of solar direct and global radiation derived from ISC-CP data and comparison with reanalysis data. **Solar Energy**, v. 80, n.11, p. 1390-1401, 2006.

LUNA, J. S. **Estudo de Plantas Bioativas**. Pernambuco, 2006. 254p. Tese de Doutorado - Universidade Federal de Pernambuco.

MAAS, P. J. M.; RAINER, H.; LOBÃO, A. Q. **Annonaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil** Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB110572>>. Acesso em: 14 de outubro de 2017.

MACÊDO, C.L. **Envolvimento dos canais de potássio na ação espasmodolítica do ácido 8 (17), 12E, 14-labdatrieno-18-óico (labdano-302), isolado de *Xylopia langsdorfiana* A. St.-Hil. & Tul. em íleo isolado de cobaia**. João Pessoa, 2008. 105p. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal da Paraíba.

MACÊDO, M.; FERREIRA, A. R. Plantas hipoglicemiantes utilizadas por comunidades tradicionais na Bacia do Alto Paraguai e Vale do Guaporé, Mato Grosso-Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, p. 45-47, 2004.

MAGANHA, E.G.; HALMENSCHLAGER, R.C.; ROSA, R.M.; HENRIQUES, J.A.P.; RAMOS, A.L.L.P.; SAFI, J. Pharmacological evidences for the extracts and secondary metabolites from plants of the genus *Hibiscus*. **Food Chemistry**, v.118, n.1, p.1-10, 2010.

MAHMOUD, B.H.; HEXSEL, C.L.; HAMZAVI, I.H.; LIM, H.W. Effects of visible light on skin. **Photochemistry and Photobiology**, v. 84, p. 450-462, 2008.

MAMEDE, M.E.O.; PASTORE, G.M. Compostos fenólicos do vinho: estrutura e ação antioxidante. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 22, n. 2, p. 233-252, 2004.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMENEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.79, p.727-747, 2004.

MANCEBO, S.E.; HU, J.Y.; WANG, S.Q. Sunscreens: a review of health benefits, regulations, and controversies. **Dermatologic clinics**, v. 32, n. 3, p. 427-438, 2014.

MANSUR, J.S.; BREDER, M.N.; MANSUR, M.C.A.; AZULAY, R.D. Radiações ultravioletas: Prevenção dos seus efeitos maléficos. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.61, n.2, p.73-78, 1996.

MARKHAM, K.R. **Techniques of flavonoid identification**. Academic Press, 1982.

London, UK; 113 p.

MARTINS, I.R.R.; SANTOS, R.F.; CORREIRA, A.C.C.; OLIVEIRA, G.A.; MACEDO, C.L.; MONTEIRO, F.S.; SANTOS, P.F.; CAVALCANTE, F.A.; TAVARES, J.F.; SILVA, B.A. Relaxant effect of Ent-7 α -hydroxytrachyloban-18-oic acid, a trachylobane diterpene from *Xylopia langsdorffiana* A. St-Hil. & Tul., on tracheal smooth muscle. **Journal of Smooth Muscle Research**, v. 49, p. 15-25, 2013.

MARTINS, J.L.S. Avaliação da eficácia dos bronzeadores contendo filtros solares. **Saúde-UFSM**, v.19, p. 23-25, 1993.

MATSUI, M.S.; HSIA, A.; MILLER, J.D.; HANNEMAN, K.; SCULL, H.; COOPER, K.D. Non-sunscreen photoprotection: antioxidants add value to a sunscreen. **Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings**, v. 14, p. 56-59, 2009.

MAVERAKIS, E.; MIYAMURA, Y.; BOWEN, M. B.; CORREA, G.; ONO, Y.; GOODARZI, H. Light, including ultraviolet. **Journal of Autoimmunity**, v. 34, n. 3, p. 247-257, 2010.

MELO, M.M.; RIBEIRO, C.S.C. Novas Considerações sobre a Fotoproteção no Brasil: Revisão de Literatura/New Considerations on the Photoprotection in Brazil: Literature Review. **Revista ciências em saúde**, v. 5, n. 3, p. 80-96, 2015.

MENDIOLA, J.A.; ALVAREZ, P.J.M.; SEÑORÁNS, F.J.; REGLERO, G.; ALESSANDRO, C.; NAZZARO, F.; SADA, A.; CIFUENTES, A.; IBÁÑEZ, E. Design of Natural Food Antioxidant Ingredients through a Chemometric Approach. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 787-792, 2010.

MISHRA, K.; OJHA, H.; CHAUDHURY, N.K. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. **Food Chemistry**, v. 130, p. 1036-1043, 2012.

MOON, J. K.; SHIBAMOTO, T. Antioxidant assays for plant and food components. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 1655-1666, 2009.

MOREIRA, A.V.B.; MANCINI, F.J. Influência dos compostos fenólicos de especiarias sobre a lipoperoxidação eo perfil lipídico de tecidos de ratos. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 4, p. 411-424, 2004.

MOREIRA, I. C.; ROQUE, N. F.; CONTINI, K.; LAGO, J. H. G. Sesquiterpenos e hidrocarbonetos dos frutos de *Xylopia emarginata* (Annonaceae). **Revista brasileira de farmacognosia**, v. 17, p. 55-58, 2007.

MOREIRA, I.C.; ROQUE, N.F.; VILEGAS, W.; ZALEWSKI, C.A.; LAGO, J.H.G.; FUNASAKI, M. Genus *Xylopia* (Annonaceae): Chemical and Biological Aspects. **Chemistry and Biodiversity**, v.10, n.11, p.1921-1943, 2013

MOURA, A.P.G. **Avaliação da atividade antitumoral e toxicológica do óleo essencial dos frutos de *Xylopia langsdorffiana* St. Hil. & Tul. (Annonaceae).**

João Pessoa, 2012. 117p. Dissertação de Mestrado - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba.

NASCIMENTO, A.A.; RIBEIRO, E.A.N.; OLIVEIRA, J.M.; MEDEIROS, F.A.; SILVA, M.S.; MEDEIROS, I.A. Cardiovascular effects induced by the hydroalcoholic extract of the stem of *Xylopia cayennensis* in rats. **Revista brasileira de farmacognosia**, v. 16, p. 17-21, 2006.

NASCIMENTO, C.S.; NUNES, L.C.C.; LIMA, A.A.N.; JÚNIOR, S.G.; NETO, P.J.R. Incremento do FPS em formulação de protetor solar utilizando extratos de própolis verde e vermelha. **Revista brasileira de farmacognosia**, v. 90, n. 4, pp. 334-339, 2009.

NASSER, N.; AZULAY, R.D. Prevenção do câncer da pele e fatores ambientais. In: NEVES, K. Sol e origem da radiação eletromagnética. **Revista de Negócios da indústria da Beleza – Edição temática: Proteção Solar**, n. 7, p.10-13, 2008.

NICHOLS, J.A.; KATIYAR, S.K. Skin photoprotection by natural polyphenols: antiinflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms. **Archives of Dermatological Research**, v. 302, p. 71-83, 2010.

NISHIYAMA, Y.; MORIYASU, M.; ICHIMARU, M.; IWASA, K.; KATO, A.; MATHENGE, S. G.; CHALO MUTISO, P. B.; JUMA, F. D. Antinociceptive effects of the extracts of *Xylopia parviflora* bark and its alkaloidal components in experimental animals. **Nature Medicine**, v. 64, p. 9-15, 2009.

OCANHA, J.P.; DIAS J.T.; MIOT, H.M.; STOLF, H.M.; MARQUES, M.E.A.; ABBADE, L.P.F. Recidivas e recorrências de carcinomas basocelulares da face. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n.2, p. 386-388, 2011.

OKUDA, T.; ITO, H. Tannins of Constant Structure in Medicinal and Food Plants: Hydrolyzable Tannins and Polyphenols Related to Tannins. **Molecules**, n.3, p. 2191-2217, 2011.

OSORIO, E.; ARANG O, G. J.; JIMÉNEZ, N.; ALZATE, F.; RUIZ, G.; GUTIÉRREZ, D.; PACO, M. A.; GIMÉNEZ, A.; ROBLEDO, S. Antiprotozoal and cytotoxic activities In vitro of Colombian Annonaceae. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, p. 630-635, 2007.

PACHECO, L.S.; MARCOLIN, E.; MOURA, J.D.; MARRONI, P.A.N.; SAFFI, J.; RICHTER, M.F. Aplicação de uma metodologia de HPCL para avaliação do potencial antioxidante in vitro da planta *Croton cajucara* Benth a base da Xantina Oxidase. **Revista de Iniciação Científica da ULBRA**, n. 5, 2016.

PALM, M.D.; O'DONOGHUE, M.N. Update on photoprotection. *Dermatology and Therapy*, v. 20, p. 360-376, 2007.

PAOLA, M.V.R.V. Importância da Fotoproteção. **Revista de Cosmiatria & Estética**, p. 5-7, 1999.

PETRI, V. *Fotobiologia: conceitos básicos*. Universidade Federal De São Paulo–Escola Paulista De Medicina–Departamento De Dermatologia, 2005. Disponível em: <<http://www.cvs.saude.sp.gov.br/fotobiologia.html>>. Acesso em: 16 ago. 2005.

PETRY, R.D.; ORTEGA, G.G.; SILVA, W.B. Flavonoid content assay: influence of the reagent concentration and reaction time on the spectrophotometric behavior of the aluminium chloride flavonoid complex. **Pharmazie**, v. 56, n. 6, p. 465-470, 2001.

PETRY, V.; REY, M.C.W.; PIVA, D.; FISCHER, A.C.; WELTER, E.Q.; WEBER, M.B.; BONAMIGO, R.R. Exposição solar, fotoproteção e câncer da pele: comparação entre os conhecimentos auto-referidos por médicos residentes em pediatria e dermatologia. **Revista da AMRIGS**, v. 52, n. 2, p. 93-96, 2008.

PIENIZ, S.; COLPO, E.; OLIVEIRA, V.R.; ESTEFANEL, V.; ANDREAZZA, R. Avaliação in vitro do potencial antioxidante de frutas e hortaliças. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 2, p. 552-559, 2009.

PIMENTEL, C.V.M.B.; FRANCKI, V.M.; GOLLÜCKE, A.P.B. **Alimentos funcionais: introdução as principais substâncias bioativas em alimentos**. São Paulo: Ed. Varela, p. 95, 2005.

RAMALHO, V.C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

RAMOS, M.V.; FERNÁNDEZ, C.M.; CARRERO, E.B.; DOBAO, P.C.; MUR, E.C.; HERMOSA, J.M.H. Fotoprotección en la infancia. **Revista Pediatría de Atención Primaria**, v. 11, n. 42, p. 313-24, 2009.

RAMOS, M.F.S.; SANTOS, E.P.; DELLAMORA-ORTIZ, G.M. Avaliação da atividade antissolar e estudos preliminares de fotodegradação de própolis. **Revista Fitos**, v. 5, n. 3, p. 73-84, 2010.

RANGEL, V.L.B.I.; CORRÊA, M.A. Fotoproteção. **Cosmetics & Toiletries** (edição em português), v. 14, p. 88-95, 2002.

REGINATO-D'ARCE, M.A.B. Deterioração de lipídios–ranço. In: OETTERER M, REGINATO-D'ARCE M.A.B.; SPOTO, M.H.F. (Ed.). **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Barueri: Manole, 2006. cap. 6, p. 243-299

REIS, C.N. **Annona muricata: análise química e biológica dos frutos de graviroleira**. Rio de Janeiro, 2011. 150p. Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

REISCHE, D.W; LILLARD, D.A; EITENMILLER, R.R. Antioxidants. In: AKOH, C.C.; MIN, D.B. (Ed). **Food Lipids: chemistry, nutrition and biotechnology**, 3. ed. Nova York: CRC Press, 2008. Chap. 15, p. 409-434.

REZENDE, L.C. **Avaliação da atividade antioxidante e composição química de seis frutas tropicais consumidas na Bahia**. Salvador, 2010. 118p. Tese de Doutorado – Universidade Federal da Bahia.

RODRIGUES, A.M.; DE PAULA, J.E.; DEGALLIER, N.; MOLEZ, J.E.; ESPINDOLA, L.S. Larvicidal activity of some Cerrado plant extracts against *Aedes aegypti*. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 22, p. 314-7, 2006.

RUNGER, T.M.; KAPPES, U.P. Mechanisms of mutation formation with long-wave ultraviolet light (UVA). **Photodermatology, Photoimmunology and Photomedicine**, v. 24, p. 2-10, 2008.

SAEWAN, N.; JIMTAISON, A. Natural products as photoprotection. **Journal of cosmetic dermatology**, v. 14, n. 1, p. 47-63, 2015.

SAFFORD, W. E. Classification of the genus *Annona* with descriptions of new and imperfectly known species. **Contributions from the U.S. National Herbarium**. v. 18, p. 1-68, 1914.

SANTOS, A.B.O.; LOUREIRO, V.; ARAUJO-FILHO, V.J.F.; FERRAZ, A.R. Estudo epidemiológico de 230 casos de carcinoma basocelular agressivos em cabeça e pescoço. **Revista Brasileira de Cirurgia de Cabeça e Pescoço**, v. 36, n. 4, 2007.

SANTOS, L.O.; REIS, M.R.; OGAVA, E.L.; LEÃO, V.K.; MACHADO, L.L.; POSSEDENTE, S. Avaliação da Atividade Antioxidante dos Compostos Fenólicos Presentes na *Amburana cearensis*. **Orbital-The Electronic Journal of Chemistry**, v. 8, n. 1, p. 44-49, 2016.

SANTOS, N.A.; CORDEIRO, A.M.T.M.; DAMASCENO, S.S.; AGUIAR, R.T.; ROSENHAIM, R.; CARVALHO FILHO, J.R.; SANTOS, I.M.G.; MAIA, A.S.; SOUZA, A.G. Commercial antioxidants and thermal stability evaluations. **Fuel**, v.97, p.638-643, 2012.

SCHALKA, S.; ADDOR, F.A.Z.; AGELUNE, C.M.; PEREIRA, V.M.C. Proteção oferecida por fotoprotetores contra luz visível - uma proposta de avaliação. **Surgical & Cosmetic Dermatology**, v. 4, n.1, p. 45-52, 2012.

SCHALKA, S.; REIS, V.M.S. Fator de proteção solar: significado e controvérsias. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 3, p. 507-515, 2011.

SCHARASCHKIN, T.; DOYLE J.A. Character evolution in *Anaxagorea* (Annonaceae). **American Journal of Botany**, v. 93, n. 1, p. 36-54, 2006.

SCHERER, R.; GODOY, H.T. Effects of extraction methods of phenolic compounds from *Xanthium strumarium* L. and their antioxidant activity, **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, n. 1, p. 41-46, 2014.

SCHMIDT, P.C.; ORTEGA, G.G. Passionsblumenkraut. Bestimmung des Gesamtflavonoidgehaltes von *Passiflorae herba*. **Deutsche Apotheker Zeitung**, n. 133, p. 17-26, 1983.

SGARBI, F.C; CARMO, E.D.; ROSA, L.E.B. Radiação ultravioleta e carcinogênese. **Revista de Ciências Médicas**, v. 16, p. 245-250, 2007.

SILVA, J.J.L.; REGINO, H.G.A.; MAIA, I.L.P.; REGINO, K.N.A.; SILVA, L.B.; NUNES, S.A.R. Carcinoma de pele no segmento craniofacial: Relato de 3 casos. **Journal of Health & Biological Sciences**, v. 2, n. 3, p. 145-148, 2014.

SILVA, L.E.; REIS, R.A.; MOURA, E.A.; AMARAL, W.; SOUSA Jr, P.T. Plantas do Gênero *Xylopia*: Composição Química e Potencial Farmacológico. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, p. 814-826, 2015.

SILVA, M.L.C.; COSTA, R.S.; SANTANA, A.S.; KOBLITZ, M.G.B. Compostos fenólicos, carotenoides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

SILVA, M.S.; TAVARES, J.F.; QUEIROGA, K.F.; AGRA, M.F.; BARBOSA-FILHO, J.M.; ALMEIDA, J.R.G.S.; SILVA, S.A.S.; Alkaloids and other constituents from *Xylopia langsdorffiana* (Annonaceae). **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1566-1570, 2009.

SILVA, P.H.S.; COELHO, R.F.; SILVA, G.F.; CASTILHO, R.B.; ALBUQUERQUE, P.M. Análise do fator de proteção solar em extratos glicólicos e óleos fixos de plantas da Amazônia. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 3, n. 4, p. 621- 626, 2017.

SKLAR, L.R.; ALMUTAWA, F.; LIM, H.W.; HAMZAVI, I. Effects of ultravioleta radiation, visible light, and infrared radiation on erythema and pigmentation: a review. **Photochemical and Photobiological Sciences**, v. 12, n. 1, p. 54-64, 2013.

SOARES, S.E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v.15, n.1, p.71-81, 2002.

Sociedade Brasileira de Dermatologia. Consenso Brasileiro de Fotoproteção. Fotoproteção no Brasil: Recomendações da Sociedade Brasileira de Dermatologia. Rio de Janeiro: SBD; 2013. 40p.

SOUSA, C.M.M.; SILVA, H.R.; VIEIRA-JR, G.M.; AYRES, M.C.C.; COSTA, C.L.S.; ARAÚJO, D.S.; CAVALCANTE, L.C.D.; BARROS, E.D.S.; ARAÚJO, P.B.M.; BRANDÃO, M.S.; CHAVES, M.H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUZA, T.M.; SANTOS, L.E.; MOREIRA, R.R.D.; RANGEL, V.L.B.I. Avaliação da atividade fotoprotetora de *Achillea millefolium* L.(Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n.1, p. 36-38, 2005.

SOUZA, V.M. **Ativos dermatológicos**. 2.ed. São Paulo: Tecnopress, 2004.

SUFFREDINI, I.B.; PACIENCIA, M.L.; VARELLA, A.D.; YOUNES, R.N. In Vitro cytotoxic activity of Brazilian plant extracts against human lung, colon and CNS solid cancers and leukemia. **Fitoterapia**, v. 78, p. 223-226, 2007.

SVOBODOVA, A.; WALTEROVA, D.; VOSTALOVA, J. Ultraviolet light induced alteration to the skin. **Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacký**, v. 150, p. 25-38, 2006.

SVOBODOVÁ, A.; ZDAŘILOVÁ, A.; VOSTÁLOVÁ, J. *Lonicera caerulea* and *Vaccinium myrtillus* fruit polyphenols protect HaCaT keratinocytes against UVB-induced phototoxic stress and DNA damage. **Journal of Dermatological Science**, v. 56, n. 3, p. 196-204, 2009.

TAKARASHI, J.A.; PEREIRA, C.R.; PIMENTA, L.P.S.; BOAVENTURA, M.A.D.; SILVA, L.G.F.E. Antibacterial activity of eight Brazilian annonaceae plants. **Natural Product Research**, v. 20, p. 21-26, 2006.

TAVARES, J. F.; BARBOSA-FILHO, J.M.; SILVA, M.S.; MAIA, J.G.S.; CUNHA, E.V.L. Alkaloids and volatile constituents from the stem of *Fusaea longifolia* (Aubl.) Saff.(Annonaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 2, p. 115-118, 2005.

TAVARES, J.F.; SILVA, M.V.B.; QUEIROGA, K.F.; DINIZ, M.F.F.M.; BARBOSA-FILHO, J.M.; HAUN, M.; MELO, P.S.; SILVA, M.S. Xylodiol, a new atisane diterpenoid from *Xylopia langsdorffiana* St.-Hil. & Tul. (Annonaceae). **Zeitschrift für Naturforschung. B, A Journal of Chemical Sciences**, v. 62, n. 5, p. 742-744, 2007.

TRAVASSOS, R.A. **Envolvimento de canais para potássio e de nucleotídeos cíclicos no mecanismo de ação tocolítico do ácido 8 (17), 12E, 14 labdatrieno-18-óico (labdano-302) em útero isolado de rata**. João Pessoa, 2010. 118p. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal da Paraíba.

VEGA, M.R.G.; SOUZA, E.A.; VIEIRA, I.J.C.; MATHIAS, L.; BRAZ-FILHO, R.; ECHEVARRIA, A. Flavonoids from *Annona dioica* Leaves and their Effects in Ehrlich Carcinoma Cells, DNA-topoisomerase I and II. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, p. 1554-1559, 2007.

VICENTE, S.J.V.; QUEIROZ, Y.S.; GOTLIEB, S.L.D.; TORRES, E.A.F.S. Stability of phenolic compounds and antioxidant capacity in regular and decaffeinated coffed, **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 57, n. 1, p. 110-118, 2014.

WANASUNDARA, P.K.J.P.D.; SHAHIDI, F. Antioxidants: Science, Technology, and Applications. In F. SHAHIDI (Ed.). **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**, (6th ed.,) New Jersey: John Wiley, 2005. p. 431-489

WEBER, M.B.; PONZIO, H.A.; COSTA, F.B.; CAMINI, L. Eritema ab igne: relato de um caso. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 80, p. 187-188, 2005.

WIDEL, M.; KRZYWON, A.; GAJDA, K.; SKONIECZNA, M.; RZESZOWSKA-WOLNY, J. Induction of bystander effects by UVA, UVB, and UVC radiation in human fibroblasts and the implication of reactive oxygen species. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 68, p. 278-287, 2014.

WOLFE, K.; WU, X.; LIU, R.H. Antioxidant activity of apple peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 3, p. 609-614, 2003.

WOLLENWEBER, E.; DIETZ, V. H. Occurrence and distribution of free flavonoid aglycones in plants. **Phytochemistry**, v. 20, n. 5, p. 869-932, 1981.

WOODE, E.; ALHASSAN, A.; ABAIDOO, C.S. Effect of ethanolic fruit extract of *Xylopia aethiopica* on reproductive function of male rats. **International journal of pharmaceutical and biomedical research**, v. 2, p. 161-165, 2011.

WU, Y.; MATSUI, M.S.; CHEN, J.Z.; JIN, X.; SHU, C.M.; JIN, G.Y. Antioxidants add protection to a broad-spectrum sunscreen. **Clinical and Experimental Dermatology**, v. 36, p. 178-187, 2011.

YAMAGUCHI, K.K.L.; SANTARÉM, L.S.; LAMARÃO, C.V.; LIMA, E.S.; VEIGA-JUNIR, V.F Avaliação *in vitro* da Atividade Fotoprotetora de Resíduos de Frutas Amazônicas1. **Scientia Amazonia**, v. 5, n. 1, p. 109-116, 2016.

YANISHLIEVA, N.V. Inhibiting oxidation. In: POKORNÝ, J.; YANISHLIEVA, N.; GORDON, M. **Antioxidants in foods: practical applications**. Nova York: CRC Press. 2001. p. 22-70.

ZARATTI, F.; PIACENTINI, R.D.; GUILLÉN, H.Á.; CABRERA, S.H.; LILEY, J.B.; MCKENZIE, R.L. Proposal for a modification of the UVI risk scale. **Photochemical and Photobiological Sciences**, v. 13, n. 7, p. 980-985, 2014.

ZHENG, W.; WANG, S. Y. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n.11, p. 5165-5170, 2001.